生命科学名著

Essential Cell Biology (Third Edition)

细胞生物学精要（原书第三版）

〔美〕B.艾伯茨　D.布雷　K.霍普金　A.约翰逊
J.刘易斯　M.拉夫　K.罗伯茨　P.沃尔特　著
丁小燕　陈跃磊 等　译

科学出版社

(Q—2819.0101)

本书特色

◎ 本书英文版由美国Garland出版集团出版，全书共分20章，用简练的语言系统地讲述了当代分子细胞生物学的前沿和进展，是熟悉细胞生物学的入门读物。

◎ 本书英文版的作者是享誉世界的生物学家和教育家。例如，主编Bruce Alberts教授是国际著名生物化学家和生物物理学家，*Science*杂志主编，美国科学院前任院长。

◎ 本书文字浅显易懂，图片丰富多彩，每章结束时所提的问题引人思考。

◎ 与前版相比，第三版的每章新增“我们如何得知”部分，重点介绍如何通过实验研究来获得新的科学发现。

国外书评

"It's as if a trusted old friend has come back from an extended vacation with a bright new look and a refreshed attitude. The reader is at once comfortable with and excited by the changes. New users of the textbook will find it accessible and approachable at the professorial and student levels…I highly recommend it to all CBE-Life Sciences Education readers who are also classroom educators."（翻阅新版，如遇故友；深入浅出，值得推荐。）

– *CBE–Life Sciences Education*, Fall 2009

"This attractive, accessible, visually oriented text covers the fundamentals of cell biology required to understand biomedical and broader issues that affect students' lives."（内容详实，终生受益。）

– *SciTech Book News*, August 2009

"This book fills a critical niche in the pedagogical process of introducing cell biology and does an excellent job in reaching its objective."（以独特之教学视点，达极佳之阅读效果。）

– *The Quarterly Review of Biology*, Volume 79

"...an excellent example of designing a textbook for undergraduates and non-biology majors. It is clear, well illustrated, conversational in tone and enjoyable to read and browse through."（入门读物，寓教于乐。）

– *E–Streams*

www.sciencep.com

ISBN 978-7-03-033015-4

9 787030 330154 >

科学出版中心　生物分社
联系电话：010-64012501
E-mail：lifescience@mail.sciencep.com
网　址：http : // www.lifescience.com.cn

销售分类建议：生物学／细胞生物学

定价：220.00元(含光盘)

生命科学名著

细胞生物学精要

（原书第三版）

Essential Cell Biology

(Third Edition)

〔美〕B. 艾伯茨　D. 布雷　K. 霍普金　A. 约翰逊
J. 刘易斯　M. 拉夫　K. 罗伯茨　P. 沃尔特　著

丁小燕　陈跃磊 等　译

科学出版社

北京

图字:01-2010-0662 号

内 容 简 介

本书是美国 Garland 出版集团出版、美国科学院前院长 Bruce Alberts 等八位国际著名生物学家共同编写的 *Essential Cell Biology* 第三版的中文译本，从细胞的不同结构层次和细胞间的相互关系对细胞生物学的内容作了系统阐述，既涵盖细胞生物学的基础知识，又增添当代生命科学研究的最新成果。全书共 20 章，分别叙述细胞的生长、增殖、分化、凋亡、遗传、变异、应激、运动、迁移等内容。每一章结束时附有基本概念、关键词、问题和答案，并配有 22 个图版和近千幅插图。书中还附带一张光盘，收集了诸多的分子结构和高分辨率的显微照片，作为每一章节的补充材料，以吸引读者的兴趣。与前两版不同的是，第三版的每一章中还增添了"我们如何得知"部分，讲述科学家如何通过实验研究来获得新的发现。

本书可供国内包括生物、医学、农、林、牧、渔等专业的大学生、研究生、教师和科研人员的教学研究使用，也可供对细胞生物学有兴趣的非专业人员参考阅读。

Copyright © 2010 by Bruce Alberts, Dennis Bray, Karen Hopkin, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Reff, Keith Roberts, and Peter Walter.

All Rights Reserved. Authorized translation from English language edition published by Garland Science, part of Taylor & Francis Group LLC.

图书在版编目(CIP)数据

细胞生物学精要(原书第三版)＝Essential Cell Biology, Third Edition /(美)艾伯茨(Alberts, B.)等著；丁小燕，陈跃磊等译. —北京：科学出版社，2012
(生命科学名著)
ISBN 978-7-03-033015-4

Ⅰ.①细… Ⅱ.①艾…②丁… Ⅲ.①细胞生物学 Ⅳ.①Q2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 258417 号

责任编辑：罗 静 王 静 李晶晶 / 责任校对：赵桂芬 包志虹
责任印制：钱玉芬 / 封面设计：美光制版

科学出版社 出版
北京东黄城根北街 16 号
邮政编码：100717
http://www.sciencep.com
天时彩色印刷有限公司 印刷
科学出版社发行 各地新华书店经销
*
2012 年 3 月第 一 版 开本：787×1092 1/16
2012 年 3 月第一次印刷 印张：52 1/4
字数：1 194 000
定价：220.00 元(含光盘)
(如有印装质量问题，我社负责调换)

《细胞生物学精要》(原书第三版)
翻译人员名单

丁小燕　陈跃磊　徐　沁　石　岩　杨　科
费　聪　徐　兰　顾婷玉　胡锐颖　周桢宁
杨　瑾　张　钰　刘　彬　冯晓艳　孙啸宇

英文原版作者简介

Bruce Alberts：哈佛大学博士，现任加州大学旧金山分校（UCSF）生物化学和生物物理学教授。*Science* 杂志主编，曾任美国科学院院长达 12 年之久（1993～2005 年）。

Dennis Bray：麻省理工学院博士，现为剑桥大学荣誉退休教授。2006 年，他获得微软欧洲科学奖（Microsoft European Science Award）。

Karen Hopkin：在艾伯特·爱因斯坦医学院获生物化学博士，现居马萨诸塞州萨默维尔市（Somerville），科普作家。

Alexander Johnson：哈佛大学博士，现任加州大学旧金山分校（UCSF）微生物和免疫学教授，生物化学、细胞、遗传和发育生物学研究生项目主任。

Julian Lewis：牛津大学哲学博士，现任英国伦敦癌症研究所首席科学家。

Martin Raff：麦吉尔大学医学博士，现在英国医学研究理事会（Medical Research Council）分子细胞生物学和细胞生物学实验室和伦敦大学学院生物系。

Keith Roberts：剑桥大学博士，现任位于英国诺里奇市（Norwich）的约翰英纳斯中心（John Innes Centre）荣誉退休教授。

Peter Walter：纽约洛克菲勒大学博士，现任加州大学旧金山分校（UCSF）生物化学和生物物理系主任、教授，同时是霍华德休斯医学研究所（Howard Hughes Medical Institute）研究员。

英文原版前言

在我们的世界里，没有一种物质的形式会比活细胞更让人感到惊讶：微小、脆弱、复杂得不可思议、不断地重新构建，却至今仍在其DNA中存储着可以追溯到三十亿年前的信息（那时我们的星球刚刚从新生的太阳系的热物质中冷却下来）。进化不断地推动它的多样化，使之极为广谱并具有适应性，同时却仍然保留着一个复杂的自我复制的化学机器核心。在每种动物、每片树叶，一片乳酪上的每个细菌乃至一桶酒中的每个酵母中，这种机制为地球表面的每个生物体所共享并被不断地重复使用。

如果没有其他原因的话，那么正是好奇心驱使我们来研究细胞生物学；不过对于细胞生物学为什么会成为每个人所受教育的一部分，这还有一些实际上的原因。我们由细胞组成，我们以细胞为食，细胞使我们的世界适于居住。我们必须了解细胞生物学来认识自己；来照顾我们的健康；来关注我们的食物供应；以及来保护我们濒于毁灭的生态系统。科学家们所面临的挑战是要深化知识，并且寻找应用的新途径。而我们所有人作为普通公民则需要了解某些学科来紧随现代社会，如从我们自身的健康事务到环境变化的公共问题、生物医药技术、农业以及流行疾病。

细胞生物学是一门大学科，它几乎与所有的其他学科分支都有关联。因此，细胞生物学的研究提供了一项巨大的科普教育。然而，过量的信息和技术上的术语容易使人们迷失在细节中而分散注意力。因此，在本书中我们专注于提供便于掌握、简单明了和引人入胜的基本概念介绍。我们设法以即便是初次涉足现代生物学的读者也能看懂的方式来阐释活细胞如何工作：揭示细胞的分子（特别是蛋白质、DNA和RNA分子）如何协作来建立这个能够摄食、应激、运动、生长、分裂和自我复制的奇特系统。

当我们撰写 *Molecular Biology of the Cell*（*MBoC*）（现已出版第五版）一书时，我们就认识到有必要对细胞生物学的精髓作出简要而清晰的说明。*MBoC* 这本书针对生命科学或医学专业的本科生和研究生。许多只需大致了解细胞生物学的学生和非专业人士认为 *MBoC* 一书过于详尽。相反，*Essential Cell Biology*（*ECB*）则试图提供细胞生物学的基本原理，很多人需要用这本书来了解那些影响人类生活的生物医药问题和更为广泛的生物学问题。

在这第三版中，我们对书中的每个章节都逐一作了更新，使新的内容涵盖染色体结构和表观遗传学、miRNA和RNAi、蛋白质质量控制、细胞识别、遗传变异、干细胞及其潜在的医学价值、合理的癌症治疗、基因组进化以及许多其他主题。我们改进了热力学的讨论，将细胞周期和细胞分裂并为一章，并且增添了"我们如何得知"部分。这个部分通过描述实验来阐明生物学家如何处理重要的问题，以及实验结果如何改变未来的观念。

与之前的版本一样，*ECB* 里的图表强调关键的概念而删去不必要的细节。每一章节引入的关键术语在第一次出现时都被明显标示，并汇集在书末附有解释的"术语汇编"中。我们没有开列需要进一步阅读的参考文献：读者若要更为深入地探究某个主题，可以参阅 *MBoC*（第五版）中所开列的阅读书目明细，也可以借助搜索引擎在最新的文献中查找相关的综述，例如Pubmed(http://www.ncbi.nlm.nih.gov)或Google Scholar(scholar.google.com)。

本书的一个主要特点是在每章之后提出了许多问题。这是试图激发学生去思考他们已经阅读过的内容，并鼓励他们停下来测试自己到底理解了多少。许多问题都要求学生把新获得的

信息放在一个更为广阔的生物学范围内，而且有些问题的正确答案不止一个。另一些问题则需要推理来解答。本书的最后部分附有所有问题的答案；在许多情况下，这些答案对本书的主要内容作出一个评述性的或可供选择的展望。

如果有些人需要进一步灵活掌握细胞生物学知识并且加深了解细胞生物学家如何从实验中提炼结论，我们推荐 John Wilson 和 Tim Hunt 编著的 *Molecular Biology of the Cell, Fifth Edition: A Problems Approach*。作为 *MBoC* 的姐妹篇，它包含各个难度层次的问题，是一个激发教师和学生思考的宝库。在 *ECB* 一书中，我们选用了其中的某些问题，在此我们向那本书的作者表示衷心的感谢。

新的绘图和计算机技术的蓬勃发展不断为活细胞的内部活动提供引人入胜的最新图像。我们努力捕捉这些进展的新突破，并在每本书中都附有修订版的 *Essential Cell Biology Interactive* 多媒体播放器的光盘。它包括 130 多个视频选录、分子结构和高分辨率的显微照片，所有这些都是书中每一章节的补充材料。如果没看到细胞的爬行、分裂、染色体分离以及表面排列，就不会对这些过程的分子机制有惊叹的感觉。为了对科学所揭示的掩盖在日常事务表面之下的奇迹有一个清晰的认识，在 DVD 里配上一个 DNA 复制的视频是很难的。我们希望 *ECB Interactive* 在灌输教科书的基本概念时能够激发学生的兴趣，因而使细胞生物学的学习更为简单和有益。

正如 *MBoC* 一样，本书的每一章节都是共同努力的结果，每个人写的初稿都经过轮流传阅。此外，我们还得到了许多人员的无私帮助，我们将其归入到致谢部分。尽管我们做了最大努力，但难免还有不妥之处。我们希望读者发现后能将其发送至 science@garland.com 告知我们，以便再版时加以改正。

（丁小燕　陈跃磊　译）

致　谢

作者向所有在第三版创作过程中作出诸多贡献的世界各地的教授和学生们表示感谢。我们特别要感谢核心团队里的学生们;他们向我们提供了许多在使用这本书和多媒体过程中的非常宝贵的经验,他们的很多建议被我们在这一版中采纳。

我们还要感谢在他们各自的学校中帮助建立核心团队的教授们:西安大略大学的 Chris Brandl,犹他大学的 David L. Gard,旧金山大学的 Juliet Spencer,麻省大学波士顿分校的 Keren Witkin 和 Linda Huang。我们非常感激他们的盛情。

我们也收到了使用过第二版过程中的教师们的详细评论,我们感谢他们的工作:Margarida D. Amaral(里斯本大学);Lynne Arneson(美国大学);Karl Aufderheide(得克萨斯 A&M 大学);David K. Banfield(香港科技大学);Stephen F. Baron(布里奇沃特学院);Deborah Bielser(伊利诺伊大学香槟分校);Barbara D. Boyan(佐治亚理工学院);Chris Brandl(西安大略大学);Keith Brown,(布里斯托大学);Jane Bruner(加州州立大学斯坦尼斯洛斯分校);Patrick Bryan(米德尔塞克斯社区学院);Sharon K. Bullock(弗吉尼亚联邦大学);Mike Clemens(伦敦大学圣乔治医学院);Anne Cordon(多伦多大学密西沙加校区);Andrew Dalby(埃克塞特大学);Dan Eshel(布鲁克林学院);Nicolas Forraz(金斯顿大学);David L. Gard(犹他大学);Mark Grimes(蒙大拿大学);Hollie Hale-Donze(路易斯安那州立大学);Lynn Hannum(科尔比学院);Na'il M. Hasan(伯塞特大学);Jeannette M. Loutsch(阿肯色州立大学);Charles Mallery(迈阿密大学);Kathy Martin-Troy(中央康涅狄格州立大学);Gordon T. A. McEwan(阿伯丁大学医学院);Colin McGuckin(金斯顿大学);Gerard McNeil(纽约城市大学约克学院);Roger W. Melvold(北达科他大学医学健康科学学院);Cristina Murga(马德里康普顿斯大学);T. Page Owen,Jr.(康乃狄格学院);Martin Rumsby(约克大学);Esther Siegfried(匹兹堡大学约翰斯敦分校);Roger D. Sloboda(达特茅斯学院);Julio Soto(圣何塞州立大学);Juliet Spencer(旧金山大学);Paul H. Tomasek(加州州立大学北岭分校);Gary Wessel(布朗大学);Esther F. Wheeler(得克萨斯理工大学);Keren Witkin(麻省大学波士顿分校)。

特别感谢 David Morgan 在重新编写细胞分裂这一章中给予的设计和审查方面的帮助。

我们还要感谢读者们能够指出上一版中的错误而使我们将其改正。

许多 Garland 公司的员工为这本书的创作作出的贡献,并且使我们的工作很愉快。首先,我们对本书编辑 Michael Morales 致以特别的感谢,他协调了整项工作。他组织了最初的审查和核心团队,与每一章的作者一起紧密工作,在我们落后的时候激励我们,并且在 *Essential Cell Biology Interactive* 的设计、组织和制作中起了主要的作用。Sigrid Masson 在制作过程和整本书的校对过程中设法使每一章都流畅,并且检查了相应的题库的编写。Kate Ghezzi 和 Monica Toledo 做了编辑上的辅助工作。Nigel Orme 带来了作者 Keith Roberts 创作的原始绘图,并且用计算机加以重新绘制,甚至有时候用技巧和天赋来手绘。感谢 Matt McClements 设计本书和 DVD 的图解。Emma Jeffcock 为筹划整本书和仔细参与我们无穷无尽的修改做了杰出的工作。Eleanor Lawrence 和 Sherry Granum 对每个章节做了进一步的编辑,修正了很多草

稿。Eleanor 不仅从头到尾阅读整本书使其内容清晰和连贯，还修订和扩充了术语汇编。Adam Sendroff 和 Lucy Brodie 收集读者反馈并把这本书推广到全世界。作为 Garland Science 的副主席，Denise Schanck 以最大努力协调了整个工作。我们向这份长长的清单上所罗列的每一个人送上我们深深的谢意。

最后也是最重要的一点，我们要再次感谢我们的家庭、我们的同事以及家庭托管员的支持和宽容。

教师和学生的资源[①]

绘图

本书的插图有两种简便的格式：PowerPoint® 和 JPEG。这些插图放在这本书附带的媒体 DVD-ROM 的文件夹里或者可以从 Classwire™ 网站下载。在 Classwire 网站上，每个 JPEG 图片都可以通过图片编码、图片名称或者书中图例的关键词搜索到。

多媒体 DVD-ROM

每本书都包括一张 DVD-ROM 光盘，以提供给学生和教师如下资源。

互动

该多媒体播放器包含超过 130 个视频，每章有一个自我测试，还有为研究高分辨率的显微照片提供便利的细胞浏览程序。在本书中，这些视频通过标示红色被直接索引[例如(视频 1.1)]。如果你在多媒体播放器的电影文件夹中输入书中的视频编号，就会自动出现相应的视频。这一特色是应学生要求而设，这样可以更容易地将视频融入到主动的学习过程中去。

学生自我测试

该测试是这一版中新增加的，它使学生在每一章的基本阅读理解中做自我检测，可以通过互动的多媒体播放器点击访问自我测试。

视频库

该存档用三种简便的格式包含了互动中的所有视频：WMV、QuickTime® 和 iPod®。WMV 版本支持 Windows® 用户将视频导入到 PowerPoint 中。QuickTime 版本支持 Macintosh® 用户把视频导入到 PowerPoint。而 iPod 版本已经被格式化只能用于 iPod 和 iTunes®。

多媒体指南

该 PDF 概述了 DVD 的内容并且包含了所有视频的画外音文字。

整合图片的讲课大纲

章节标题、概念标题和书中的插图已被整合到 PowerPoint 报告中。如果教师开始为他们的课程准备讲义开端，这是很便利的。与所有的 PowerPoint 报告一样，讲义大纲可以被定制。例如，报告的内容可以结合 DVD-ROM 中的视频以及本书中“题库”中的问题，这样可以创作独特的讲义以便于课堂上的互动学习。这个资源可以在 Classwire 网站上找到。

题库

修订和补充的题库是由麻省大学波士顿分校的 Linda Huang 和哈佛大学继续教育部门的 Cheryl D. Vaughan 编写的，其中包括一系列问题形式：多项选择、填空、对错判断、连线、短文和具有挑战性的“思考”题。每一章有 50～60 个问题，大量的多项选择题可以用个人选择系统来完成(例如，点击)。题库的创作包含着这样的原理：好的考试不止是检测学生记忆信息的能力；它更应该要求他们反映和整合这些信息并作为彻底理解的一部分。它提供的综合问题范例

---

① 此翻译版所附的光盘仅提供 JPEG 图片。

可以直接使用,也可以在编写他们自己的考题时作为参考。教师们可以通过电子邮件 science@garland. com 来获得题库。

探寻活细胞的 DVD-视频

这套独特的 DVD 由法国国家科学研究院的 Christian Sardet 创作、Veronique Kleiner 指导完成,它带领我们在生命的基本单位——细胞中旅行。著名的生物学家和年轻的科学家们利用最早的绘图和现代显微镜下令人兴奋的图像来描述他们的研究,分享他们的发现。我们了解细胞是如何被发现的,它们如何发挥功能,它们如何与健康和疾病相关,以及未来将会怎么样。

Classwire™

Classwire 管理系统可以在 www. classwire. com/garlandscience 上找到,这使得教师们能够轻松地建立课程的网页。它也可以作为教师资源的在线存档文件。在 Classwire 注册后,你就可以下载这本书中的所有图片和 DVD 中的所有视频。Classwire 网站上还有 Garland Science 图书的其他教师资源。在访问 Classwire 系统时如有任何问题,请联系 science@garland. com(Classwire™是 Chalkfree 公司的商标)。

目　录

英文原版作者简介
英文原版前言
致谢
教师和学生的资源

1　介绍细胞

1.1　细胞的同一性与多样性 …… 1
　1.1.1　细胞在外形与功能方面变化巨大 …… 2
　1.1.2　活细胞都有相似的基本化学组成和化学性质 …… 3
　1.1.3　一切现代细胞明显地都是由同一祖先进化而来 …… 4
　1.1.4　基因提供给细胞指令以形成细胞形态、功能和复杂的行为 …… 5
1.2　显微镜下的细胞 …… 5
　1.2.1　光学显微镜的发明导致了细胞的发现 …… 5
　1.2.2　在显微镜下可以看到细胞、细胞器甚至分子 …… 7
1.3　原核细胞 …… 9
　1.3.1　原核生物是最多样化的细胞 …… 11
　1.3.2　原核生物的世界被分为两类:真细菌和古细菌 …… 11
1.4　真核细胞 …… 12
　1.4.1　细胞核是细胞的信息存储器 …… 13
　1.4.2　线粒体利用食物产生能量而赋予细胞动力 …… 14
　1.4.3　叶绿体从日光捕获能量 …… 15
　1.4.4　内膜创建功能各异的胞内区室 …… 16
　1.4.5　胞质溶胶是一种浓缩的大分子和小分子的含水凝胶 …… 18
　1.4.6　细胞骨架负责细胞运动 …… 19
　1.4.7　细胞质远远不是静态的 …… 20
　1.4.8　真核细胞可能作为捕食者而起源 …… 21
1.5　模式生物 …… 23
　1.5.1　分子生物学家聚焦于大肠杆菌 …… 23
　1.5.2　酿酒酵母是一种简单的真核细胞 …… 23
　1.5.3　从30万种植物中选出拟南芥作为模式植物 …… 24
　1.5.4　动物界以果蝇、蠕虫、鼠和人为代表 …… 24
我们如何得知:生命的共同机制 …… 25
　1.5.5　比较基因组序列将揭示生命共同的遗传密码 …… 30
图版 1-1　显微镜 …… 32
图版 1-2　细胞结构 …… 34

2 细胞的化学成分

2.1 化学键 …… 39
2.1.1 细胞由少数几种原子组成 …… 39
2.1.2 最外层电子决定原子间如何相互作用 …… 41
2.1.3 电子的得失形成离子键 …… 43
2.1.4 共用电子对形成共价键 …… 45
2.1.5 共价键强度的变化 …… 46
2.1.6 共价键有不同的类型 …… 47
2.1.7 静电吸引力帮助细胞内的分子结合在一起 …… 48
2.1.8 水通过氢键结合在一起 …… 48
2.1.9 一些极性分子在水溶液中形成酸和碱 …… 49
2.2 细胞内的分子 …… 50
2.2.1 细胞由碳化合物构成 …… 50
2.2.2 细胞含有四种主要的有机小分子 …… 50
2.2.3 糖是细胞的能源,也是多糖的亚基 …… 51
2.2.4 脂肪酸是细胞膜的组分 …… 53
2.2.5 氨基酸是蛋白质的基本构成单位 …… 54
2.2.6 核苷酸是 DNA 及 RNA 的亚基 …… 55
2.3 细胞内的大分子 …… 57
2.3.1 大分子的亚基排列具有特定的序列 …… 58
我们如何得知:什么是大分子? …… 59
2.3.2 非共价键确定一个大分子的精确形状 …… 61
2.3.3 非共价键使一个大分子结合另一些特定的分子 …… 61
图版 2-1 化学键和化学基团 …… 62
图版 2-2 水的化学性质 …… 64
图版 2-3 几种糖的类型概述 …… 66
图版 2-4 脂肪酸和其他脂类 …… 68
图版 2-5 蛋白质里的 20 种氨基酸 …… 70
图版 2-6 核苷酸概述 …… 72
图版 2-7 非共价键的主要类型 …… 74

3 能量、催化作用与生物合成

3.1 细胞中能量的利用 …… 82
3.1.1 细胞释放热能,从而有可能形成生物学有序性 …… 82
3.1.2 光合生物利用太阳光合成有机分子 …… 84
3.1.3 细胞通过有机分子的氧化作用获得能量 …… 86
3.1.4 氧化及还原反应涉及电子转移 …… 87
3.2 自由能和催化作用 …… 89
3.2.1 酶降低阻止化学反应的势垒 …… 89
3.2.2 一个反应的自由能变化决定这个反应能否进行 …… 92

3.2.3 反应物的浓度影响自由能的改变和反应的方向 …… 92
3.2.4 标准自由能的变化使得我们能比较不同反应之间的能量 …… 93
3.2.5 细胞生存于化学不平衡的状态下 …… 93
3.2.6 平衡常数直接与 ΔG^{o} 成比例 …… 94
3.2.7 在复杂反应中，平衡常数取决于所有反应物和产物的浓度 …… 95
3.2.8 平衡常数指示分子相互作用的强度 …… 95
3.2.9 对于系列反应，自由能的变化是额外的 …… 96
3.2.10 酶如何找到它们的底物：快速扩散的重要性 …… 98
3.2.11 V_{max} 和 K_M 计量酶的活性 …… 99
我们如何得知：使用动力学来模拟和操作代谢途径 …… 100
3.3 活化的载体分子与生物合成 …… 103
3.3.1 一个活化载体的形成与一个能量方面有利的反应相耦合 …… 104
3.3.2 ATP 是用得最广泛的活化载体分子 …… 104
3.3.3 储存在 ATP 中的能量常被用于两个分子的连接 …… 106
3.3.4 NADH 及 NADPH 是重要的电子载体 …… 106
3.3.5 细胞内有许多其他活化载体分子 …… 109
3.3.6 生物多聚物的合成要求输入能量 …… 111
图版 3-1 自由能与生物学反应 …… 114

4 蛋白质的结构和功能

4.1 蛋白质的形状与结构 …… 122
4.1.1 氨基酸序列确定蛋白质的形状 …… 122
4.1.2 蛋白质折叠形成能量最低的构象 …… 124
4.1.3 蛋白质可以形成多种复杂的形状 …… 126
4.1.4 α 螺旋和 β 折叠是常见的折叠方式 …… 128
4.1.5 在生物结构中容易形成螺旋结构 …… 128
4.1.6 在许多蛋白质的核心区域，β 折叠形成坚固的结构 …… 130
4.1.7 蛋白质具有多个层次的组织形式 …… 132
4.1.8 在大量可能的多肽链中只有少数几个是有功能的 …… 134
4.1.9 蛋白质可被归纳分类 …… 134
4.1.10 大蛋白质分子通常含有一条以上的多肽链 …… 134
4.1.11 蛋白质可以装配形成丝、片或球 …… 136
4.1.12 一些类型的蛋白质具有伸长的纤维形状 …… 137
4.1.13 胞外蛋白常因共价交联而得以稳定 …… 138
4.2 蛋白质如何发挥作用 …… 139
4.2.1 蛋白质结合其他分子 …… 139
4.2.2 抗体结合位点极为多样化 …… 141
4.2.3 酶是强有力且高度专一的催化剂 …… 142
4.2.4 溶菌酶揭示了酶的工作机制 …… 142
4.2.5 大多数的药物抑制酶的活性 …… 145
4.2.6 紧密结合的小分子赋予蛋白质额外的功能 …… 145

4.3 蛋白质如何被调控 …… 146
4.3.1 酶的催化活性通常可以被其他分子调控 …… 146
4.3.2 变构酶有两个相互影响的结合位点 …… 147
4.3.3 磷酸化通过引发构象变化来调控蛋白质的活性 …… 149
4.3.4 GTP 结合蛋白同样受到添加和去除磷酸基团的调控 …… 150
4.3.5 核苷酸的水解促使细胞中的马达蛋白产生大的位移 …… 151
4.3.6 蛋白质通常形成大型复合物,起蛋白质机器的作用 …… 151
4.3.7 共价修饰调控蛋白质机器的定位和装配 …… 153
我们如何得知:探究蛋白质的结构 …… 154
4.4 如何研究蛋白质 …… 156
4.4.1 细胞能够在培养皿上生长 …… 157
4.4.2 纯化技术使人们从细胞匀浆中获得均质的蛋白质制品 …… 158
4.4.3 通过基因工程技术能够大量生产几乎任何一种蛋白质 …… 159
4.4.4 蛋白质结构和功能的自动化研究加快了发现的步伐 …… 160
图版 4-1 蛋白质功能的几个例子 …… 161
图版 4-2 描述小型 SH2 蛋白结构域的四种不同方式 …… 162
图版 4-3 抗体的制备和使用 …… 164
图版 4-4 细胞的裂解和细胞抽提物的初步分离 …… 166
图版 4-5 用层析法分离蛋白质 …… 168
图版 4-6 用电泳法分离蛋白质 …… 169

5 DNA 和染色体

5.1 DNA 的结构和功能 …… 174
5.1.1 一个 DNA 分子是由两条互补的核苷酸链组成的 …… 175
我们如何得知:基因由 DNA 组成 …… 176
5.1.2 DNA 的结构提供了一种遗传机制 …… 180
5.2 真核生物染色体的结构 …… 181
5.2.1 真核生物的 DNA 包装在多个染色体中 …… 181
5.2.2 染色体含有一长串基因 …… 183
5.2.3 细胞周期中染色体以不同状态存在 …… 184
5.2.4 间期染色体是在细胞核内形成的 …… 185
5.2.5 染色体 DNA 是高度浓缩的 …… 186
5.2.6 核小体是染色质结构的基本单位 …… 187
5.2.7 染色体包装有多重层次 …… 189
5.3 染色体结构的调节 …… 191
5.3.1 染色体结构的改变使蛋白质可以接触 DNA …… 191
5.3.2 间期染色体同时含有浓缩的和伸展的染色质形态 …… 192
5.3.3 染色质结构的改变是可以遗传的 …… 194

6 DNA 复制、修复和重组

6.1 DNA 复制 …… 201
6.1.1 碱基配对使 DNA 得以复制 …… 201

6.1.2 DNA 合成从复制起始位点开始 …… 202
我们如何得知:复制的性质 …… 203
6.1.3 新的 DNA 在复制叉上进行合成 …… 206
6.1.4 复制叉是不对称的 …… 207
6.1.5 DNA 聚合酶能自我校正 …… 208
6.1.6 短的 RNA 充当 DNA 合成的引物 …… 210
6.1.7 在复制叉处的蛋白质相互协调,形成复制机器 …… 212
6.1.8 端粒酶复制真核生物染色体末端 …… 213
6.2 DNA 修复 …… 214
6.2.1 突变能对一个细胞或生物体产生严重的后果 …… 214
6.2.2 DNA 错配修复系统清除被复制机器忽略了的复制差错 …… 215
6.2.3 DNA 在细胞内持续不断地受到损伤 …… 217
6.2.4 基因的稳定性取决于 DNA 修复 …… 218
6.2.5 双链断裂可以被快速但并不完美地修复 …… 220
6.2.6 DNA 复制和修复的保真度的记录保存在基因组序列中 …… 220
6.3 同源重组 …… 221
6.3.1 同源重组需要有相似序列的大范围区域 …… 221
6.3.2 同源重组可以完美地修复 DNA 双链的断裂 …… 221
6.3.3 同源重组在减数分裂期间交换遗传信息 …… 222
6.4 可移动的遗传因子和病毒 …… 224
6.4.1 可移动的遗传因子编码其移动所需的组件 …… 224
6.4.2 人基因组由两个主要的转座序列家族组成 …… 225
6.4.3 病毒是能离开细胞的高度可移动的遗传因子 …… 226
6.4.4 逆转录病毒逆转正常的遗传信息流 …… 228

7 从 DNA 到蛋白质:细胞如何阅读基因组

7.1 从 DNA 到 RNA …… 234
7.1.1 部分 DNA 序列转录成 RNA …… 234
7.1.2 转录产生与一条 DNA 链互补的 RNA …… 235
7.1.3 细胞内产生几种类型 RNA …… 238
7.1.4 DNA 上的信号指示 RNA 聚合酶在何处起始和结束 …… 238
7.1.5 真核生物基因转录的起始是一个复杂的过程 …… 240
7.1.6 真核 RNA 聚合酶需要通用转录因子 …… 241
7.1.7 真核 RNA 在核内同时被转录和加工 …… 242
7.1.8 真核基因被非编码序列所间隔 …… 245
7.1.9 内含子由 RNA 剪接而被去除 …… 245
7.1.10 成熟的真核细胞 mRNA 从细胞核内输出是具有选择性的 …… 247
7.1.11 mRNA 分子最终被细胞降解 …… 247
7.1.12 最早期的细胞基因内可能已有内含子 …… 248
7.2 从 RNA 到蛋白质 …… 249
7.2.1 mRNA 以三核苷酸组的形式被解译 …… 249

我们如何得知:破译遗传密码 …… 251
7.2.2 tRNA 分子使氨基酸与 mRNA 上的密码子相匹配 …… 253
7.2.3 特定的酶使 tRNA 与正确的氨基酸偶联 …… 254
7.2.4 RNA 信息在核糖体上被解译 …… 254
7.2.5 核糖体具有催化功能 …… 257
7.2.6 mRNA 上的密码子指示蛋白质合成的起始及终止 …… 258
7.2.7 蛋白质在多核糖体上合成 …… 260
7.2.8 抗生素——原核生物的蛋白质合成抑制剂 …… 260
7.2.9 精细控制的蛋白质降解协助调控细胞内每种蛋白质的量 …… 261
7.2.10 从 DNA 到蛋白质之间有很多步骤 …… 262
7.3 RNA 和生命起源 …… 263
7.3.1 生命需要自催化 …… 264
7.3.2 RNA 既能储存信息也能催化化学反应 …… 264
7.3.3 RNA 在进化上早于 DNA …… 265

8 基因表达调控

8.1 基因表达概述 …… 272
8.1.1 多细胞生物中的不同类型细胞包含相同的 DNA …… 272
8.1.2 不同细胞类型产生不同的蛋白质 …… 273
8.1.3 细胞可以响应外界信号改变自身基因的表达 …… 273
8.1.4 基因表达可在自 DNA 到 RNA 再到蛋白质途径中的多处步骤上被调控 …… 273
8.2 转录是如何开启的 …… 274
8.2.1 转录控制是通过蛋白质结合到 DNA 调节序列上实现的 …… 274
8.2.2 转录开关使细胞响应环境的改变 …… 276
8.2.3 阻抑物关闭基因,活化物开启它们 …… 277
8.2.4 活化物和阻抑物控制 *Lac* 操纵子 …… 278
8.2.5 真核基因转录调控蛋白从远处控制基因表达 …… 279
8.2.6 启动子 DNA 包装成核小体会影响转录起始 …… 280
8.3 造成特异细胞类型的分子机制 …… 281
8.3.1 真核基因是由蛋白质组合来调控的 …… 281
我们如何得知:基因调控——*Eve* 的故事 …… 282
8.3.2 不同基因的表达可被单个蛋白质协调 …… 284
8.3.3 组合控制可产生不同细胞类型 …… 285
8.3.4 稳定的基因表达型式可传递给子细胞 …… 286
8.3.5 单个转录调控蛋白能触发一个完整器官的生成 …… 288
8.4 转录后调控 …… 289
8.4.1 核开关给基因调控提供了一个经济的手段 …… 289
8.4.2 mRNA 的非翻译区域可以控制自身的翻译 …… 289
8.4.3 调控性小 RNA 可以控制成百上千动植物的基因的表达 …… 291
8.4.4 RNA 干扰摧毁外源双链 RNA …… 292
8.4.5 科学家可以利用 RNA 干扰关闭基因 …… 292

9 基因和基因组如何进化

9.1 遗传性变异的产生 ······ 297
9.1.1 有性生殖生物体生殖细胞所产生的变异可以传递给后代 ······ 299
9.1.2 DNA 复制和维护的正常机制发生故障将导致点突变的发生 ······ 300
9.1.3 点突变能够改变对基因的调节 ······ 300
9.1.4 DNA 复制产生相关基因家族 ······ 301
9.1.5 珠蛋白的进化史显示了基因的复制和分离能够为生物体及其发展量身定制合适的蛋白质 ······ 304
9.1.6 全基因组重复塑造了很多物种的进化史 ······ 305
9.1.7 新的基因可通过同一外显子的重复而产生 ······ 305
9.1.8 转座因子的移动加速了基因组进化 ······ 306
9.1.9 基因的水平转移能够导致物种间基因交换 ······ 308
9.2 重建生命的"家族树" ······ 308
9.2.1 具有选择性优势的遗传变异易于被保留 ······ 309
9.2.2 人类和黑猩猩在基因组构成及序列细节上都具有相似性 ······ 310
9.2.3 功能上重要的区域以保守 DNA 序列岛的形式出现 ······ 310
9.2.4 基因组比较显示脊椎动物的基因组能够很快地获得和失去 DNA ······ 312
9.2.5 序列保守性使得我们能够追溯最远的进化上的亲缘关系 ······ 313
9.3 人类基因组的研究 ······ 314
9.3.1 人类基因组的核苷酸序列显示我们的基因是如何编排的 ······ 315
我们如何得知:基因数目 ······ 317
9.3.2 保守基因组序列的加速改变帮助我们揭示我们之所以为人类 ······ 319
9.3.3 人类基因组的遗传变异有利于我们的个性发展 ······ 320
9.3.4 人类基因组包含的丰富信息尚未被破译 ······ 321

10 基因及基因组分析

10.1 操纵及分析 DNA 分子 ······ 327
10.1.1 限制性核酸酶在特定位点切开 DNA 分子 ······ 328
10.1.2 凝胶电泳分离片段大小不同的 DNA 分子 ······ 329
10.1.3 杂交为检测特定核苷酸序列提供了灵敏的方法 ······ 330
10.1.4 杂交是通过设计识别特异核苷酸序列的 DNA 探针来完成的 ······ 330
10.2 DNA 克隆技术 ······ 331
10.2.1 DNA 连接酶将 DNA 片段连接成一个重组 DNA 分子 ······ 332
10.2.2 重组 DNA 分子可以在细菌中进行复制 ······ 332
10.2.3 特定的质粒载体被用来克隆 DNA ······ 333
10.2.4 基因可以从 DNA 文库中分离得到 ······ 334
10.2.5 cDNA 文库代表一个特定组织所产生的 mRNA ······ 336
10.2.6 聚合酶链反应扩增选定的 DNA 序列 ······ 338
10.3 探索解密遗传信息 ······ 342
10.3.1 DNA 快速测序方法 ······ 343

10.3.2 全新的 DNA 分子可以被构建出来 …… 345
10.3.3 应用重组 DNA 可以大量生产稀有蛋白质 …… 345
我们如何得知:人类基因组测序 …… 346
10.3.4 报告基因及原位杂交可以揭示基因的表达的时空 …… 349
10.3.5 DNA 微阵列杂交可以一次性检测上千种基因的表达 …… 352
10.3.6 遗传学方法可以揭示基因功能 …… 353
10.3.7 动物可以进行遗传改造 …… 353
10.3.8 RNA 干扰为研究基因功能提供了简单的方法 …… 356
10.3.9 转基因植物对细胞生物学及农业十分重要 …… 357

11 膜的结构

11.1 脂双层 …… 366
11.1.1 膜脂质在水中形成双层 …… 366
11.1.2 脂双层是一种二维流体 …… 369
11.1.3 脂双层的流动性取决于它的组成成分 …… 371
11.1.4 脂双层是不对称的 …… 372
11.1.5 在膜运输过程中脂质保留不对称性 …… 372
11.2 膜蛋白 …… 373
11.2.1 膜蛋白以多种方式与脂双层结合 …… 374
11.2.2 多肽链通常以 α 螺旋穿过双层 …… 374
11.2.3 膜蛋白能被去垢剂溶解并纯化 …… 376
11.2.4 只有少数几种膜蛋白的完整结构是清楚的 …… 377
11.2.5 细胞皮层加固质膜 …… 378
11.2.6 细胞能限制膜蛋白的运动 …… 380
11.2.7 细胞表面被覆糖类 …… 381
我们如何得知:测量膜流 …… 382

12 膜 转 运

12.1 膜转运的基本原理 …… 389
12.1.1 细胞内外的离子浓度差异很大 …… 389
12.1.2 脂质双分子层对于溶质和离子是不可渗透的 …… 389
12.1.3 膜转运蛋白分为两种类型:载体蛋白和通道蛋白 …… 390
12.1.4 溶质通过被动转运或主动转运穿过膜 …… 391
12.2 载体蛋白及其功能 …… 391
12.2.1 浓度梯度和电势能驱动被动转运 …… 392
12.2.2 主动转运使溶质逆它们的电化学梯度迁移 …… 393
12.2.3 动物细胞利用 ATP 水解的能量泵出 Na^+ …… 394
12.2.4 Na^+-K^+ 泵由瞬时磷酸化所驱动 …… 395
12.2.5 Na^+-K^+ 泵帮助维持动物细胞的渗透压平衡 …… 395
12.2.6 Ca^{2+} 泵使细胞内 Ca^{2+} 保持低浓度 …… 397
12.2.7 偶联转运蛋白利用溶质浓度梯度主动摄取营养物 …… 397

12.2.8 植物、真菌和细菌利用 H^+ 梯度驱动膜转运 …… 399
12.3 离子通道和膜电位 …… 401
12.3.1 离子通道是离子选择性的和门控的 …… 401
12.3.2 离子通道在开放和关闭状态之间随机进行快速切换 …… 403
12.3.3 离子通道的开放和关闭受外界刺激影响 …… 405
12.3.4 电压门控离子通道应答膜电位 …… 406
12.3.5 膜电位由膜对特定离子的通透性来调控 …… 406
12.4 神经细胞的离子通道和信号转导 …… 408
12.4.1 动作电位为迅速的长距离通讯提供了条件 …… 409
12.4.2 动作电位通常由电压门控 Na^+ 通道介导 …… 409
我们如何得知：乌贼为我们展示膜兴奋性的奥秘 …… 411
12.4.3 在神经末梢处，电压门控 Ca^{2+} 通道把电信号转换为化学信号 …… 414
12.4.4 靶细胞内的递质门控通道把化学信号转变回电信号 …… 415
12.4.5 神经元既接收兴奋性输入又接收抑制性输入 …… 416
12.4.6 递质门控离子通道是精神药物的重要靶点 …… 417
12.4.7 突触连接使你能思考、动作和记忆 …… 418

13 细胞如何从食物中获得能量

13.1 糖和脂肪的分解及利用 …… 423
13.1.1 食物分子分三个阶段分解 …… 424
13.1.2 糖酵解是一条重要的 ATP 生产途径 …… 426
13.1.3 发酵使 ATP 在无氧条件下产生 …… 427
13.1.4 糖酵解说明酶如何将氧化作用与能量储存耦合 …… 427
13.1.5 糖与脂肪都在线粒体中分解为乙酰 CoA …… 431
13.1.6 柠檬酸循环通过将乙酰基氧化为 CO_2 而产生 NADH …… 432
我们如何得知：发现柠檬酸循环 …… 435
13.1.7 许多生物合成途径从糖酵解或柠檬酸循环开始 …… 437
13.1.8 在大多数细胞中电子传递驱动大部分 ATP 合成 …… 437
13.2 代谢的调节 …… 439
13.2.1 合成代谢和分解代谢反应是有组织并受调控的 …… 440
13.2.2 反馈调节使细胞从葡萄糖降解变为葡萄糖合成 …… 440
13.2.3 细胞在特殊的存储器中储存食物分子以备需要 …… 441
图版 13-1 详解糖酵解的 10 个步骤 …… 444
图版 13-2 完整的柠檬酸循环 …… 446

14 线粒体和叶绿体中的能量生产

细胞通过一种基于膜的机制获得其大部分能量 …… 450
14.1 线粒体和氧化磷酸化 …… 452
14.1.1 线粒体由外膜、内膜以及两个膜被区室构成 …… 453
14.1.2 高能电子通过柠檬酸循环产生 …… 454
14.1.3 化学渗透过程将活化载体分子携带的能量转化为 ATP …… 454

14.1.4 电子传递链将质子泵入线粒体内膜 …… 456
14.1.5 泵送质子产生陡峭的跨线粒体内膜的电化学质子浓度梯度 …… 456
14.1.6 电化学质子梯度驱动 ATP 合成 …… 458
14.1.7 电化学质子梯度驱动跨线粒体内膜的偶联转运 …… 459
14.1.8 氧化磷酸化产生细胞的大部分 ATP …… 460
14.1.9 在线粒体内 ADP 快速转变成 ATP，使细胞内维持 ATP/ADP 的高比率 …… 461
14.2 电子传递与质子泵送的分子机制 …… 461
14.2.1 质子很容易被电子传递移动 …… 461
14.2.2 氧化还原电位是电子亲和性的量度 …… 462
我们如何得知：化学渗透偶联如何驱动 ATP 合成 …… 463
14.2.3 电子传递释放大量能量 …… 465
14.2.4 金属紧密地与蛋白质结合，形成多种多样的电子载体 …… 466
14.2.5 细胞色素氧化酶催化分子氧的还原反应 …… 468
14.2.6 在原子水平研究 H^+ 泵送机制 …… 469
14.2.7 呼吸作用有惊人的效率 …… 470
14.3 叶绿体与光合作用 …… 470
14.3.1 叶绿体与线粒体相似但有一个额外的区室 …… 471
14.3.2 叶绿体从阳光捕获能量用以固定碳 …… 473
14.3.3 叶绿素分子吸收光能 …… 473
14.3.4 激活的叶绿素分子把能量汇集到一个反应中心 …… 474
14.3.5 光能驱动 ATP 和 NADPH 的合成 …… 476
14.3.6 叶绿体能够调节自身的 ATP 合成 …… 477
14.3.7 使用 ATP 和 NADPH 进行碳固定以将 CO_2 转化为糖 …… 478
14.3.8 碳固定作用产生的糖可以以淀粉形式储存或消耗用以产生 ATP …… 480
14.4 线粒体和叶绿体的起源 …… 480
14.4.1 氧化磷酸化可能为古细菌提供了进化优势 …… 481
14.4.2 光合成细菌对它们的环境需求更少 …… 482
14.4.3 甲烷球菌的生命形式表明化学渗透偶联是一个古老的过程 …… 484
图版 14-1 氧化还原电位 …… 485

15 胞内区室及转运

15.1 膜被细胞器 …… 490
15.1.1 真核细胞含有一套基本的膜被细胞器 …… 491
15.1.2 膜被细胞器由不同途径进化而来 …… 493
15.2 蛋白质分选 …… 494
15.2.1 蛋白质通过三种机制输入细胞器 …… 495
15.2.2 信号序列指导蛋白质到正确的区室中 …… 495
15.2.3 蛋白质通过核孔进入核内 …… 496
15.2.4 蛋白质解折叠进入线粒体和叶绿体 …… 498
15.2.5 蛋白质在被合成时即进入内质网 …… 499
15.2.6 可溶性蛋白质被释入内质网腔 …… 501

15.2.7 起始和终止信号决定跨膜蛋白在脂双层中的排列 …… 502
15.3 囊泡转运 …… 504
15.3.1 转运囊泡携带可溶性蛋白质和膜来往于区室之间 …… 504
15.3.2 囊泡出芽由一种蛋白质外被的组装所驱动 …… 505
15.3.3 束缚蛋白和 SNARE 决定囊泡停靠的特定地点 …… 506
15.4 分泌途径 …… 508
15.4.1 大多数蛋白质在内质网中被共价修饰 …… 508
15.4.2 蛋白质离开内质网时受到监控以保证蛋白质的质量 …… 508
15.4.3 内质网的大小由流经它的蛋白质的数量决定 …… 510
15.4.4 蛋白质在高尔基体内被进一步修饰和分选 …… 510
15.4.5 分泌蛋白通过胞吐作用自细胞中释出 …… 511
15.5 胞吞途径 …… 513
我们如何得知:追踪蛋白质和囊泡运输 …… 513
15.5.1 特化的吞噬细胞摄入大颗粒 …… 515
15.5.2 液体和大分子通过胞饮作用被摄入 …… 516
15.5.3 受体介导的胞吞作用提供一条进入动物细胞的特殊途径 …… 516
15.5.4 胞吞的大分子在内体中被分选 …… 517
15.5.5 溶酶体是细胞内消化的主要场所 …… 518

16 细胞通讯

16.1 细胞信号传导的一般原理 …… 525
16.1.1 信号能经过长程或短程而起作用 …… 525
16.1.2 每个细胞根据其自身来源和现状应答有限的一组信号 …… 528
16.1.3 细胞对信号的响应可快可慢 …… 529
16.1.4 有些激素穿越质膜并且结合到胞内受体上 …… 530
16.1.5 一些可溶性气体穿越质膜,直接激活细胞内的酶 …… 531
16.1.6 细胞表面受体经由胞内信号传导途径传递胞外信号 …… 532
16.1.7 一些细胞内信号传导蛋白起分子开关的作用 …… 534
16.1.8 细胞表面受体分为三个主要的类别 …… 535
16.1.9 与离子通道偶联的受体把化学信号转变成电信号 …… 537
16.2 G 蛋白偶联受体 …… 537
16.2.1 G 蛋白偶联受体的刺激作用激活 G 蛋白亚基 …… 537
16.2.2 某些 G 蛋白直接调节离子通道 …… 540
16.2.3 某些 G 蛋白激活与膜结合的酶 …… 540
16.2.4 cAMP 通路可激活酶并开启基因 …… 541
16.2.5 肌醇磷脂途径引起细胞内 Ca^{2+} 升高 …… 544
16.2.6 Ca^{2+} 信号触发诸多生物学过程 …… 546
16.2.7 细胞内信号级联放大能达到惊人的速度、敏感性和适应性 …… 546
16.3 酶联受体 …… 549
16.3.1 激活的受体酪氨酸激酶招募一个胞内信号蛋白复合物 …… 549
16.3.2 大多数受体酪氨酸激酶激活单体 GTP 酶 Ras …… 550

16.3.3 受体酪氨酸激酶激活磷酸肌醇 3 激酶产生质膜中的脂停泊位点 …… 551
我们如何得知:解析细胞信号通路 …… 553
16.3.4 有些受体激活一条到核的快速通道 …… 556
16.3.5 多细胞性和细胞通讯在植物和动物中独立地进化 …… 558
16.3.6 蛋白激酶网络整合信息来控制复杂的细胞行为 …… 558

17 细胞骨架

17.1 中间丝 …… 566
17.1.1 坚固耐久的中间丝 …… 566
17.1.2 中间丝增强细胞应对机械压力 …… 567
17.1.3 核被膜由中间丝构成的纤维网络支撑 …… 569
17.2 微管 …… 570
17.2.1 微管是两端结构明显不同的中空管子 …… 571
17.2.2 中心体是动物细胞中主要的微管组织中心 …… 571
17.2.3 增长中的微管表现出动态的不稳定性 …… 572
17.2.4 微管被维持在组装和去组装的动态平衡中 …… 573
17.2.5 微管把细胞的内部组织起来 …… 575
17.2.6 马达蛋白驱动胞内转运 …… 575
17.2.7 细胞器沿着微管移动 …… 577
我们如何得知:寻找马达蛋白 …… 578
17.2.8 动力蛋白驱动含有稳定微管的纤毛和鞭毛 …… 580
17.3 肌动蛋白丝 …… 583
17.3.1 肌动蛋白丝纤细而富有柔韧性 …… 583
17.3.2 肌动蛋白和微管蛋白通过相同的机制聚合起来 …… 583
17.3.3 许多蛋白质结合肌动蛋白丝并修饰其性能 …… 584
17.3.4 大部分真核细胞质膜下有一个富含肌动蛋白的“皮层” …… 585
17.3.5 细胞的爬行依赖于肌动蛋白 …… 586
17.3.6 肌动蛋白结合肌球蛋白并形成可收缩的结构 …… 588
17.3.7 胞外信号控制肌动蛋白丝的排列 …… 589
17.4 肌肉收缩 …… 590
17.4.1 肌肉收缩依赖于肌动蛋白和肌球蛋白的纤维束 …… 590
17.4.2 在肌肉收缩中,肌动蛋白丝和肌球蛋白丝相互滑动 …… 590
17.4.3 突发性 Ca^{2+} 升高触发肌肉收缩 …… 592
17.4.4 在机体中肌细胞发挥高度特化的功能 …… 595
图版 17-1 三种蛋白丝的主要类型 …… 596

18 细胞分裂周期概述

18.1 细胞分裂周期 …… 601
18.1.1 细胞周期概述 …… 602
18.1.2 真核细胞周期可分为四期 …… 602
18.1.3 一个中央控制系统启动细胞周期的主要进程 …… 603

18.1.4 细胞周期控制在所有真核细胞中都是类似的 …… 604
18.2 细胞周期控制系统 …… 604
18.2.1 细胞周期控制系统依赖于周期性激活的蛋白激酶(称为 Cdk) …… 605
我们如何得知:细胞周期蛋白和 Cdk 的发现 …… 605
18.2.2 Cdk 的活性也受磷酸化和去磷酸化所调节 …… 607
18.2.3 各种细胞周期蛋白-Cdk 复合物启动细胞周期的不同步骤 …… 607
18.2.4 细胞周期控制系统同样依赖于细胞周期蛋白 …… 609
18.2.5 抑制 Cdk 的蛋白可以使细胞周期停滞在特定的检查点 …… 609
18.3 S 期 …… 610
18.3.1 S-Cdk 启动 DNA 复制并有助于预防再复制 …… 610
18.3.2 黏连蛋白保持每个复制染色体的姐妹染色单体在一起 …… 611
18.3.3 DNA 损伤检查点有助于防止受损 DNA 的复制 …… 611
18.4 M 期 …… 613
18.4.1 M-Cdk 促使进入 M 期和有丝分裂 …… 613
18.4.2 凝缩蛋白帮助复制的染色体成型以便分离 …… 614
18.4.3 细胞骨架实现了有丝分裂和胞质分裂 …… 614
18.4.4 M 期通常分为六个阶段 …… 615
18.5 有丝分裂 …… 615
18.5.1 两个中心体有助于形成有丝分裂纺锤体的两极 …… 616
18.5.2 有丝分裂纺锤体在前期开始组装 …… 617
18.5.3 染色体在前中期附着于有丝分裂纺锤体 …… 617
18.5.4 染色体辅助装配有丝分裂纺锤体 …… 619
18.5.5 中期染色体排列在纺锤体的赤道板处 …… 619
18.5.6 蛋白质水解引发姐妹染色单体分离并完成有丝分裂 …… 620
18.5.7 染色体在后期分开 …… 620
18.5.8 未连接的染色体阻止姐妹染色单体分离 …… 622
18.5.9 核被膜在分裂末期重新形成 …… 622
18.6 胞质分裂 …… 623
18.6.1 有丝分裂纺锤体决定胞质分裂面 …… 623
18.6.2 动物细胞的收缩环由肌动蛋白和肌球蛋白构成 …… 623
18.6.3 植物细胞中胞质分裂涉及新细胞壁的形成 …… 624
18.6.4 细胞分裂时的被膜细胞器必须分配到子细胞中 …… 625
18.7 细胞数量和细胞大小的控制 …… 626
18.7.1 凋亡辅助调节动物细胞数目 …… 626
18.7.2 胞内的蛋白质水解级联反应介导细胞凋亡 …… 627
18.7.3 胞内蛋白 Bcl2 家族调控细胞死亡程序 …… 628
18.7.4 动物细胞需要胞外信号来进行生存、生长和分裂 …… 629
18.7.5 动物细胞需要存活因子以免于凋亡 …… 630
18.7.6 促有丝分裂因子促进细胞分裂 …… 631
18.7.7 生长因子刺激细胞生长 …… 632
18.7.8 一些胞外信号蛋白抑制细胞存活、细胞分裂或细胞生长 …… 632

图版 18-1 动物细胞 M 期的主要阶段 …… 634

19 性与遗传

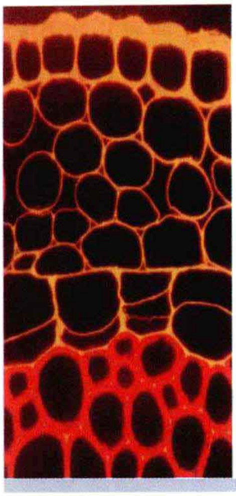
19.1 性的优势 …… 641
19.1.1 有性生殖需要二倍体和单倍体两种细胞 …… 642
19.1.2 有性生殖使生物体具有竞争优势 …… 644
19.2 减数分裂及受精作用 …… 645
19.2.1 二倍体细胞通过减数分裂产生单倍体细胞 …… 645
19.2.2 减数分裂涉及特殊的染色体配对过程 …… 646
19.2.3 同源染色体间可以进行交换 …… 647
19.2.4 染色体配对和重组保障同源染色体的分离 …… 648
19.2.5 第二次减数分裂产生单倍体子代细胞 …… 649
19.2.6 单倍体细胞的遗传信息进行了重组 …… 649
19.2.7 减数分裂并非完美无缺 …… 651
19.2.8 受精重新建成新的二倍体基因组 …… 652
19.3 孟德尔和遗传法则 …… 653
19.3.1 孟德尔选择以分离方式遗传的性状来研究 …… 654
19.3.2 孟德尔否认了其他的遗传理论 …… 655
19.3.3 孟德尔第一次揭示了遗传分离定律 …… 655
19.3.4 每个配子对应于每一种性状含有一个等位基因 …… 656
19.3.5 孟德尔的分离定律适用于所有的有性生殖生物 …… 657
19.3.6 决定不同性状的等位基因间独立分离 …… 658
19.3.7 减数分裂时孟德尔遗传法则下的染色体行为 …… 660
19.3.8 染色体交换可以用于测定基因的距离 …… 660
19.3.9 突变可以导致基因功能的丧失或获得 …… 662
19.3.10 每个人都携带很多潜在的隐性的有害突变 …… 662
19.4 遗传学作为实验工具 …… 663
19.4.1 经典的方法始于随机突变 …… 663
19.4.2 遗传筛选鉴定造成专一性细胞学过程缺陷的突变 …… 664
19.4.3 互补实验检测两个突变是否在同一个基因上 …… 665
19.4.4 单碱基多态性(SNP)作为遗传图谱的标记 …… 665
我们如何得知:利用 SNP 揭开人类疾病的面纱 …… 667
19.4.5 连锁的 SNP 组成单倍型域 …… 669
19.4.6 单倍型域为我们了解自己的进化历史提供了线索 …… 670
图版 19-1 经典遗传学的要义 …… 672

20 细胞群落:组织、干细胞和癌

20.1 胞外基质与结缔组织 …… 678
20.1.1 植物细胞具有坚韧的细胞外壁 …… 679
20.1.2 纤维素纤维使植物细胞具有抗拉强度 …… 679
20.1.3 动物的结缔组织主要由胞外基质组成 …… 681

20.1.4 胶原蛋白使动物结缔组织具有抗拉强度 …… 682
20.1.5 细胞分泌胶原蛋白并组织其分布 …… 684
20.1.6 整联蛋白使细胞外的基质与细胞内的细胞骨架偶合 …… 685
20.1.7 多糖和蛋白质凝胶填充间隙并抗压 …… 686
20.2 上皮层和胞间连接 …… 687
20.2.1 上皮层是极化的并位于基板上 …… 688
20.2.2 紧密连接使上皮不渗透并且隔离其顶端表面和基部表面 …… 689
20.2.3 与细胞骨架相连的细胞连接坚固地把上皮细胞和上皮细胞以及上皮细胞和基板结合起来 …… 691
20.2.4 间隙连接使离子和小分子能在细胞之间穿行 …… 694
20.3 组织的维持和更新 …… 695
20.3.1 组织是多种细胞类型有规律的混合物 …… 696
20.3.2 不同的组织更新的速度也不同 …… 698
20.3.3 干细胞持续供应终末分化的细胞 …… 699
20.3.4 特殊信号维持干细胞群体的数量 …… 701
20.3.5 干细胞可以修复受损的组织 …… 702
20.3.6 治疗性克隆提供了一条产生个体化 ES 细胞的途径 …… 703
20.4 癌症 …… 704
20.4.1 癌细胞的增殖、侵袭及转移 …… 705
20.4.2 流行病学研究显示癌症发生的可预防因素 …… 706
20.4.3 癌症通过突变的累积进行发展 …… 706
20.4.4 癌细胞进化形成一种能赋予它们竞争优势的特性 …… 707
20.4.5 基因类型多样化是癌症发生的关键 …… 709
我们如何得知:搞清楚那些对癌症有关键性影响的基因 …… 711
20.4.6 肠癌显示基因的缺失如何引起肿瘤的生长 …… 713
20.4.7 癌细胞生物学的研究开辟了寻找癌症治疗新方法的途径 …… 714

术语汇编 …… 719
答案 …… 742
索引 …… 800



1

介绍细胞

1.1　细胞的同一性与多样性
1.2　显微镜下的细胞
1.3　原核细胞
1.4　真核细胞
1.5　模式生物

生命是什么呢？人类、矮牵牛花和塘泥微生物都是活的；石头、沙子和夏天的微风却不是活的。那么，标志其为活物并将其与非活物质区分开来的基础特性是什么？

这个问题的答案是基于一个简单的事实，它在今天被生物学家认为是天经地义的而在170年前刚出现时则导致了一个思想上的革命，那就是一切生物都由**细胞**组成。细胞是微小的由膜包围着的单元，充满着高浓度的化合物水溶液，并且具有一种特别的能力，即通过生长及分裂制造出它自身的复制品。最简单的生命形式是单细胞。更高等的生物如我们人类自己，是细胞的共同体，庞大的细胞城市中的各个居民行使其既定的功能，通过精密的通信系统而相互协调。这些细胞均从单独一个细胞经过生长与分裂衍生而来。

细胞是生命的基本单位，我们回答“生命是什么及它如何运作”这样的问题时，必须求助于*细胞生物学*。在对细胞的结构、功能、行为和进化有了更深的认识后，我们能够尝试解决这些关于地球上生命重要的历史性问题：生命神秘的起源是什么？它们为何具有如此惊人的多样性以及为何它们在每个可以想象的栖息地存在？与此同时，细胞生物学能够给予我们人类许多有关我们自身的问题：我们来自哪里？我们是如何从一个单独的受精卵细胞发育成为一个人的？为什么我们与地球上其他每一个人都是不同的呢？为什么我们会得病、变老和死亡呢？

本章中，我们首先会观察各种各样的细胞，然后再看看细胞形态的多样性，并简要地了解为一切细胞所共有的那些化学机制。然后，我们考虑怎样才能看到细胞，考虑当利用显微镜来观察细胞内部时我们会看到什么。最后，我们将讨论如何利用生物体的相似性对地球上各种生命形式获得一个条理清楚的认识，包括从最小的细菌到最大的橡树。

1.1　细胞的同一性与多样性

细胞生物学家常常讲“细胞”却不指明是任何特定的细胞。但是正如我们已经注意到的，细胞不全是一样的；事实上，它们可以是大不相同的。据估计，世界上至少有1000万个不同的生物种类，甚至很可能有1亿种。在深入钻研细胞生物学之前，我们必须估计：细菌与蝴蝶的细胞、玫瑰与海豚的细胞有多少共同点？它们又有什么不同？

1.1.1 细胞在外形与功能方面变化巨大

让我们从细胞的大小开始。一个细菌，譬如一片奶酪中的一个乳杆菌(乳杆菌属)，为几微米长或“μm”。这约等于一根普通人头发直径的 1/25；一个蛙卵，它也是一个单细胞，直径约为 1 mm。假如我们把它们的尺度放大，使乳杆菌变成一个人那么大，那么蛙卵将有 800 m 高。

细胞的形状及细胞的运动方式也多种多样、差别很大(详见图 1-1 中的一系列细胞图)。人脑内一种典型的神经细胞可以伸展得很远，它沿着一长条纤细的胞质延伸物发送电信号，这条胞质延伸物的长度比其厚度大 1 万倍，同时它通过许许多多较短的从它的胞体上像树枝一样分叉出去的突起接受来自其他细胞的信号。一滴池水中的一个草履虫外形像一艘潜水艇，并且覆盖着好几万条纤毛——一些毛发状的伸出物，它们做波纹状的拍打运动，从而推动细胞旋转前进。植物表层的细胞是矮墩墩的、不可移动的棱柱体，细胞周围形成一层坚固的纤维素外壳且覆有防水的蜡质层。细菌蛭弧菌(*Bdellovibrio*)呈香肠样的鱼雷形状，长在其后端的一条旋动的鞭毛起推进器作用，推动细菌前进。动物体内的中性粒细胞或巨噬细胞像变形虫那样蠕动并穿行于组

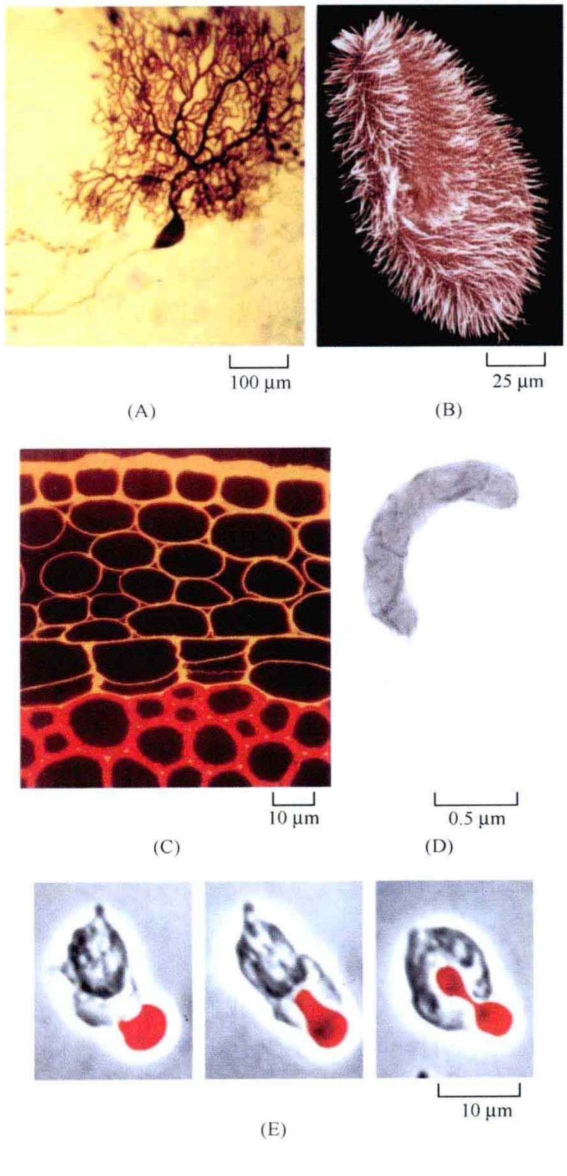


图 1-1　各种形状及大小的细胞。(A) 取自小脑(脑中控制运动的部位)的一个神经细胞。这个细胞有一个明显分叉的树突，通过树突可接受来自约 10 万个其他神经细胞的信号。(B) 草履虫(*Paramecium*)，这种原生动物是单个的巨型细胞，通过摆动那些覆盖在其表面上的纤毛而游动。(C) 一种幼嫩植物茎的切片，其中纤维素染成橘黄色，木质素染成红色。茎的最外层细胞位于照片的顶部。(D) 一种微小的细菌(*Bdellovibrio bacteriovorus*)，有一条端生鞭毛推动它自己运动。这种细菌攻击并杀死比它更大的细菌且以其为食物。(E) 人中性粒细胞(一种白细胞)正趋近并吞噬一个红细胞。(A 蒙 Constantino Sotelo 惠许，B 蒙 Anne Fleury、Michel Laurent 和 Andre Adoutte 惠许，D 蒙 Murry Stein 惠许，E 蒙 Stephen E. Malawista 和 Anne de Boisfleury Chevance 惠许)

织中，它们不断地改变自己的形状，并吞噬碎片、外源微生物以及死亡的或濒临死亡的细胞。

有些细胞仅覆盖着一层薄而弱的质膜，另一些细胞长有一层黏液外衣，或在自己周围筑起坚固的细胞壁，甚至有用一种坚硬且矿化的胞外基质包围自己的，如骨细胞。

细胞的化学需求及化学活动也差别巨大。有的需要氧才能生活，而对于另一些来说，氧则绝对是毒物。有的至多消耗一点空气、阳光与水，把它们作为原料生产活动所需的物质；有的需要复杂的由别的细胞产生的分子混合物。有的看上去好像是“专门化工厂”，生产特殊的物质如激素、淀粉、脂肪、乳汁或色素。有的是“引擎”，像肌肉，燃烧燃料做机械功；有的是“发电机”，如电鳗中特化了的肌细胞。

有些特化作用将一个细胞改变得如此之大，以至夺走了其留下后代的机会。这种特化作用对于过独居生活的细胞是没有意义的，然而在多细胞生物中，细胞之间是有分工的。一些细胞极度特化以担任特定任务，以至于在许多基本需求方面必须依赖于它们的细胞伙伴，甚至是高于一切的最基本需求——将遗传指令传递给后代——也都分派给了“专业人员”卵及精子。

1.1.2　活细胞都有相似的基本化学组成和化学性质

不管植物和动物有多么广泛的多样性，从远古时起人们就已经认识到这些生物有一些共同的东西，它们因拥有这些东西而被称为“生物”。随着显微镜的发明，事情就清楚了，原来植物和动物是细胞的组装体，细胞也能作为独立的生物存在，而且细胞个体是活的，它们能生长、繁殖，将能量的一种形式转化为另一种形式，并且还能根据环境来调节自身的功能以适应等。但是，尽管看起来很容易认识生命，仍然很难说在何种意义上一切生物是相似的。教科书努力以抽象而全面的有关生长和生殖的措辞来定义生命。

生物化学与分子生物学的发展使这个问题以最惊人的方式得以解决了。虽然现在知道在我们的行星上全部生物从外观上看有很大的不同，但从内部本质上来说它们都是相似的。我们现在知道细胞之间惊人地相似，表现在化学性质及化学组成的细节方面，对于大部分基本功能，它们共享同一机制。任何细胞都由相同类型的分子组成，通过参与相同的化学反应联系着（详见第 2 章）。一切生物的遗传信息——基因——存在于 DNA 分子中，以相同的化学密码编写，由相同的化学构建单元组成，由基本上相同的化学机制解释，并且以相同的方式复制，使生物繁殖。在每个细胞中，由四个相同单体（称为核苷酸）所组成的长的 **DNA** 多聚链绞合在一起，就像字母表中的英文字母那样形成不同的序列以传达不同的信息。在每个细胞中，DNA 中的遗传信息都被阅读或称为转录成为化学性质类似的多聚体，即 **RNA**（图 1-2）。RNA 分子有多种功能，主要的一种是作为信使 RNA，携带的信息随后被翻译成为又一种类型的多聚体——**蛋白质**。

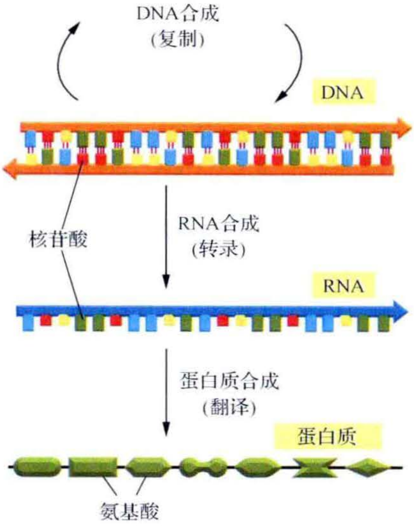


图 1-2　在所有的活细胞中，遗传信息从 DNA 流向 RNA（转录）和从 RNA 流向蛋白质（翻译）。将这些过程集合起来就是我们所熟知的基因表达。

蛋白质分子充当结构材料、化学催化剂及分子马达等，支配细胞的行为。蛋白质由氨基酸组成。在每个生物中，由同样一套 20 种不同的氨基酸构成蛋白质。但是这些氨基酸以不同的序列连接，使每个蛋白质分子具有不同的三维结构或构象，就像字母的不同序列拼出不同的单词一样。通过这种方式，同一种基

本的生物化学机器被用于生产出了整个生物界(图 1-3)。关于蛋白质、RNA 和 DNA 结构与功能的具体讨论将在第 4～第 8 章中展开。

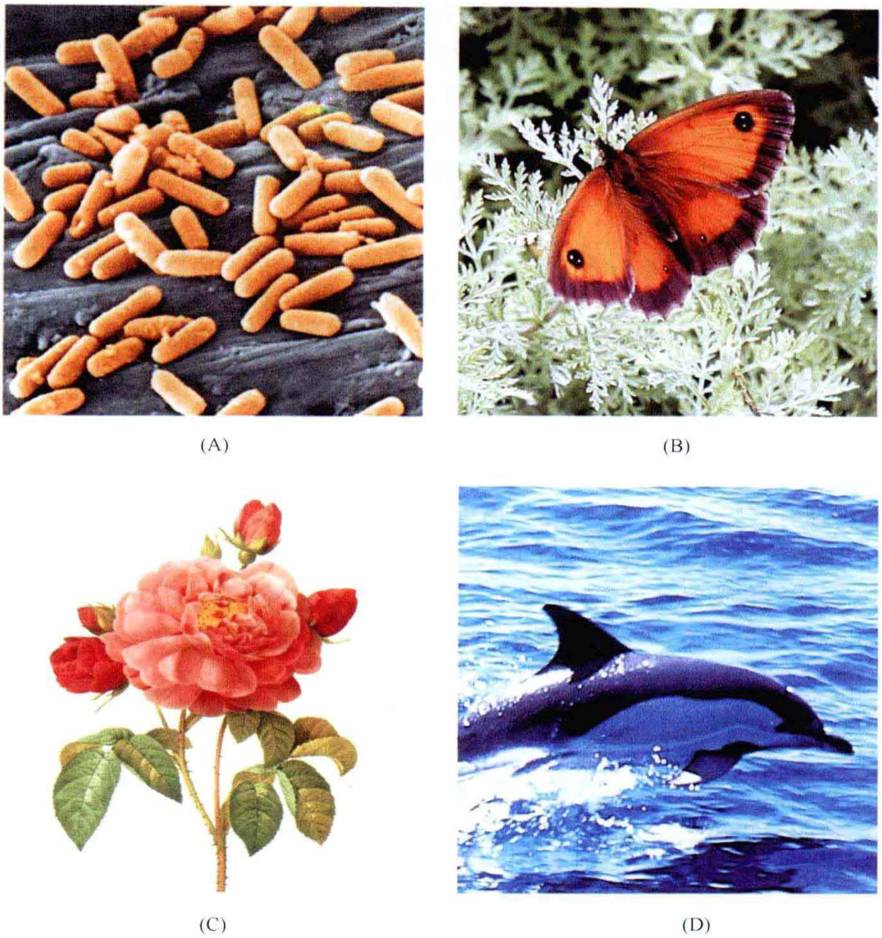


图 1-3　所有活的生物体都由细胞构成。一个细胞克隆、一个蝴蝶、一朵玫瑰以及一头海豚均由细胞构成。这些细胞具有基本相似的化学性质和化学组成,并且依照相同的基本原理运作。(A 蒙 Tony Brain 和 Science Photo Library 惠许,C 蒙 John Innes Foundation 惠许,D 蒙 Jonathan Gordon,IFAW 惠许)

如果细胞是活体的基本单位,那么没什么低于细胞的东西可以真正被称为是活的了。例如,病毒通常由蛋白质包裹着的压缩的 DNA 或 RNA 作为遗传信息,但病毒无法只凭自身的力量复制自己。只有当它们侵入细胞并寄生在细胞的繁殖机器上时才能复制自身,因此病毒就像是化学分子所组成的僵尸:它们在宿主细胞外面时显得很呆滞和迟钝,而一旦获准进入细胞,立刻实施邪恶的控制。

1.1.3　一切现代细胞明显地都是由同一祖先进化而来

一个细胞的繁殖要经过 DNA 复制然后分裂为二,向其每一个子细胞传递一份编码在 DNA 中的遗传信息拷贝。这就是为什么子代与亲代细胞相似。但是拷贝并不总是完美的,偶尔遗传信息会因 DNA 的突变而出现错误,那就是为什么子代不总是精确地与亲代一样。

突变可产生变坏的子代,它们较难成活与繁殖,或产生变好的子代,它更易存活及繁殖,或者产生中性改变的子代,它们在遗传上不同但生存能力相同。生存竞争消灭第一种,有利于第

二种，容忍第三种。下一代的基因只能是生存者的基因。此外，下一代的基因模式还由于有性生殖而变得更加复杂。有性生殖时，同物种的两个细胞融合，并将它们的 DNA 汇合；“遗传纸牌”被“洗牌”并重新“发牌”，以新的组成形式传递到下一代中去，后者又一次被测试其生存价值。

这些关于遗传变化及选择的简单原理重复作用于无数个细胞世代。它们是**进化**的基础，在这个过程中活着的物种逐渐改进并以越来越精巧的方式适应它们的环境。为什么现今的细胞在它们的根本规律方面如此相似？进化提供了一个惊人的令人非相信不可的解释：它们全都从最远的共同祖先那里继承了遗传信息。估计这个祖先细胞存在于距今 $3.5\times10^9\sim3.8\times10^9$ 年，我们必须假设它包含着被现今地球上一切生命所通用的那种机制的原型。通过突变，它的后代已经逐渐趋异，使地球上每个角落都充满着生命，并以无限多样的方式开发着这个机器的潜力。

1.1.4　基因提供给细胞指令以形成细胞形态、功能和复杂的行为

细胞的**基因组**——就是所有 DNA 所带的遗传信息的图书馆——提供了一整套遗传密码程序来指导细胞如何发挥其功能；对植物和动物细胞来说，指导其如何在生物体内的成百上千不同细胞类型中生长。在一个独立的植物或者动物体内，这些细胞之间的区别是非常大的（我们将在第 20 章中讨论）。脂肪细胞、皮肤细胞、骨细胞和神经细胞看上去与其他任何细胞都不同。然而，这些分化的细胞类型都是在胚胎发育过程中由一个受精卵发育而来，都带有该物种中 DNA 的相同拷贝。它们多变的特性是源于单个细胞执行遗传指令的方式。不同的细胞表达不同的基因——那就意味着，它们根据细胞和它们的祖先细胞从环境中接受到的指令，使用基因翻译某些蛋白质但不翻译出其他一些蛋白质。

因此，DNA 不像一张购物单那样指定所有细胞必须要有的分子，一个细胞并不是所有“购物单”中“列出物品”的一个简单总和。每一个细胞都拥有执行各种生物学任务的能力，这取决于它的环境和历史。细胞使用 DNA 中所编码的信息来指导其活性。在本书后面，我们将具体看看 DNA 将如何规定细胞所需的组件以及在什么时候和在哪里制备这些组件。

1.2　显微镜下的细胞

今天，我们有新的技术解码细胞控制其结构和活性的基本原理，但是早期的细胞生物学并没有这些工具。最早的细胞生物学家靠观察组织和细胞然后把它们破开或切片来尝试观察它们内部的东西。他们所看到的东西让他们深感莫名其妙——一群非常小的几乎看不见的物体的集合，它们与活的生物体的特性之间的关联简直是无法破解的秘密。不过，这种可以看得见的研究是通向认识的第一步，而这在细胞生物学的研究中是很重要的。

细胞总的来说是非常微小的——小到用肉眼都看不见。直到 17 世纪，**显微镜**的发明才第一次使细胞成为了可见的物体。以后几百年内关于细胞的一切知识都是用这种仪器发现的。*光学显微镜*，利用可见光照亮样品，仍然是细胞生物学家的重要装备。

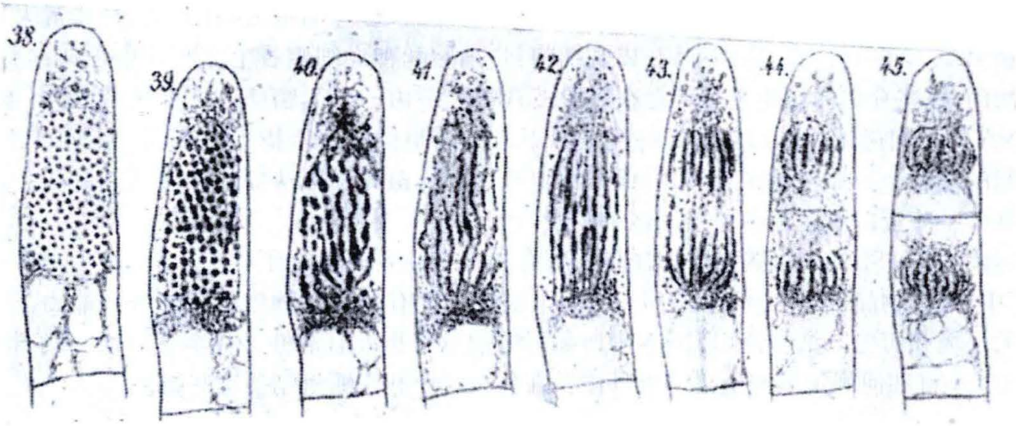
尽管这些仪器现在有了许多很复杂的改进，但光的本性决定了显微镜所能显示的细节的精细度极限。20 世纪 30 年代发明了*电子显微镜*，以电子束代替光束作为照明源突破了这一极限，大大扩展了我们观察细胞细节的能力，甚至可以看到单个比较大的分子。图版 1-1 概括了用于观察细胞的显微镜的主要种类。

1.2.1　光学显微镜的发明导致了细胞的发现

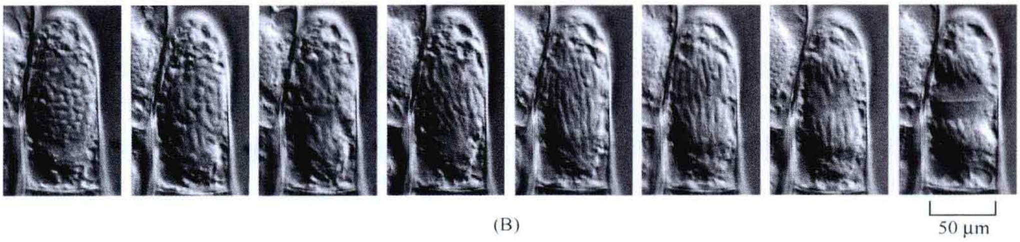
光学显微镜的发展依赖玻璃透镜制造技术的改进。17 世纪透镜被改进到可用于制作简单

的显微镜。1665 年 Robert Hooke 向伦敦皇家学会报告他曾经观察一片软木时发现它由大量小腔室组成,他称这些腔室为"cells"(细胞)。"cell"这个名词沿用至今。事实上 Hooke 描述的结构只是细胞壁,是由其内部的活的植物细胞死亡后遗留下来的。此后不久,Hooke 及其同代的荷兰人 Antoni van Leeuwenhoek 看到了活细胞,从而向人类揭示了一个以前未见到的、充满能动的微小生物的世界。

约有 200 年的时间,光学显微镜一直是一种奇特的仪器,只为少数富人所拥有。直到 19 世纪它才开始被广泛用来观察活细胞。细胞生物学明确作为一门学科出现是一个渐进的过程,许多人为此作出了贡献。但是一般地说细胞生物学的正式诞生以两篇文章为标志:一篇由植物学家 Matthias Schleiden 发表于 1838 年,另一篇由动物学家 Theodor Schwann 发表于 1839 年。在这两篇文章中,作者记录了用光学显微镜系统研究动植物组织的结果,展示了细胞是各种活体组织的通用建筑组件。他们以及 19 世纪其他显微镜工作者的工作,如图 1-4 中所举的例子,渐渐地引导人们认识到一切活细胞都由已经存在的细胞经过分裂而形成——这个学说有时被称为*细胞学说*。活的生物不会自发出现,只能来自那些已经存在的生物的这个推断经受了激烈的争辩,最后于 19 世纪 60 年代为巴斯德的实验所证实。



(A)



(B)

图 1-4 新的细胞由已存在的细胞分裂而来。(A) 1880 年 Eduard Strasburger 画了一个活的植物细胞[鸭跖草(*Tradescantia*)]花的一个毛细胞。他在 2.5h 内观察到该细胞分裂成两个子细胞。(B) 现代光学显微镜拍摄的一个类似的活细胞。(蒙 Peter Hepler 惠许)

细胞只从现存细胞发生并遗传其性状,这个原理构成了整个生物学的基础并赋予这个学科一种特殊的韵味:在生物学中,关于现在的问题不可避免地与关于过去的问题联系着。为了解现代细胞与生物体为什么表现成现在这个模样,我们需要了解它们的历史,一路回溯到地球上第一个细胞朦胧的起源。发表于 1859 年的达尔文进化学说阐明了随机变异与自然选择如何推动具有新的特征的生物体出现以适应新的生命形式这一问题。这个理论为理解生物进化历史

提出了透彻的、极为重要的见解。正如在本章后面我们将要讨论的，进化理论解释了多样性是如何在有着一个共同祖先的生物之间形成的这一问题。进化理论与细胞理论结合后引导我们对一切生命持这样一种看法：从起源至今日，全部生命就像是各个细胞组成的一棵庞大的系统树。虽然本书主要围绕现代细胞如何工作这一问题来展开，但我们会反复地涉及进化理论。

1.2.2 在显微镜下可以看到细胞、细胞器甚至分子

如果从一块合适的植物组织或动物组织切下很薄的一片，将其置于光学显微镜下，你会看到组织被分隔为成千上万个细小的细胞，它们或者紧密地聚集在一起，或者相互间被一种称为胞外基质的物质所隔开（图 1-5）。胞外基质常常是由蛋白质纤维埋在多聚糖凝胶中形成的致密物质。每个细胞的直径为 5～20 μm（图 1-6）。如果样品被小心地放置在适当的条件下，那么你会看到这些细胞表现出生命的一些征兆——颗粒在细胞中四处移动。倘若耐心地观察，你还可能会看到一个细胞慢慢地改变着形状并且分裂为两个细胞（图 1-4，在视频 1.1 中还有一个加速的蛙卵细胞分裂的短片）。

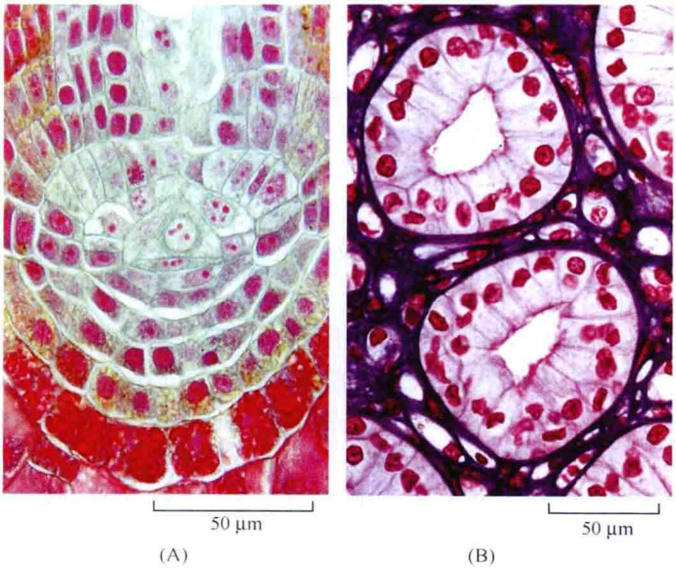


图 1-5 植物和动物组织中的细胞。（A）一种蕨类的根尖细胞，每个细胞被一层薄的细胞壁（蓝色）包围着。（B）肾输尿管（收集尿液的一种微细的小管）中的细胞。每条管道由紧密排列着的细胞（细胞核染成红色）组成，这些细胞形成一个环，被染成紫色的胞外基质包围。（B 引自 P. R. Wheater, et al., Functional Histology, 2nd. Churchill Livingstone, 1987）

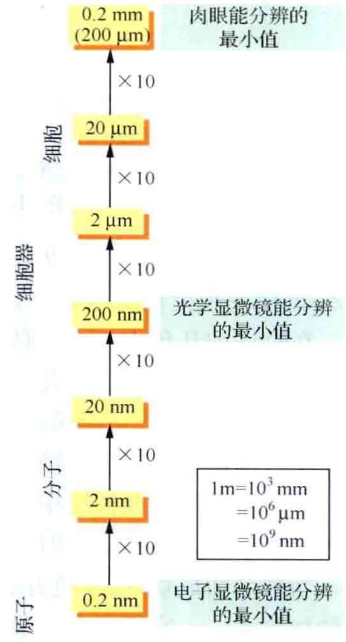


图 1-6 我们能看见什么？
图示细胞与其组成部分的大小及测量单位。

观察一个细胞的内部结构比较困难，因为这些内部结构不仅很小，而且无色透明。一个办法是用一些染料给细胞染色，这些染料能将一些特定组分染成不同的颜色（图 1-5）。另外，可以利用这样一个现象，即细胞组分间的折射率存在微小差异（正如玻璃不同于水），使得光线在从一种介质穿到另一种介质中时被偏移。光学技术可使这种微小差别变得明显可见（图版 1-1），得到的显微镜图像可用电子学方法处理而得以进一步提高清晰度。

如此展现出来的细胞有一种独特的解剖学构造（图 1-7）。它有一个清晰明确的边界，提示存在一种起包裹作用的膜。在中央，一个大而圆的细胞核显而易见。细胞核的周围是一种透明物质，即**细胞质**，后者充满细胞内部其余部位。初看时细胞质中充满着杂乱无章的各种小物体。用一台精良的光学显微镜就可以区分细胞质中的特定的成分（图 1-7B）并将它们分类，但是普

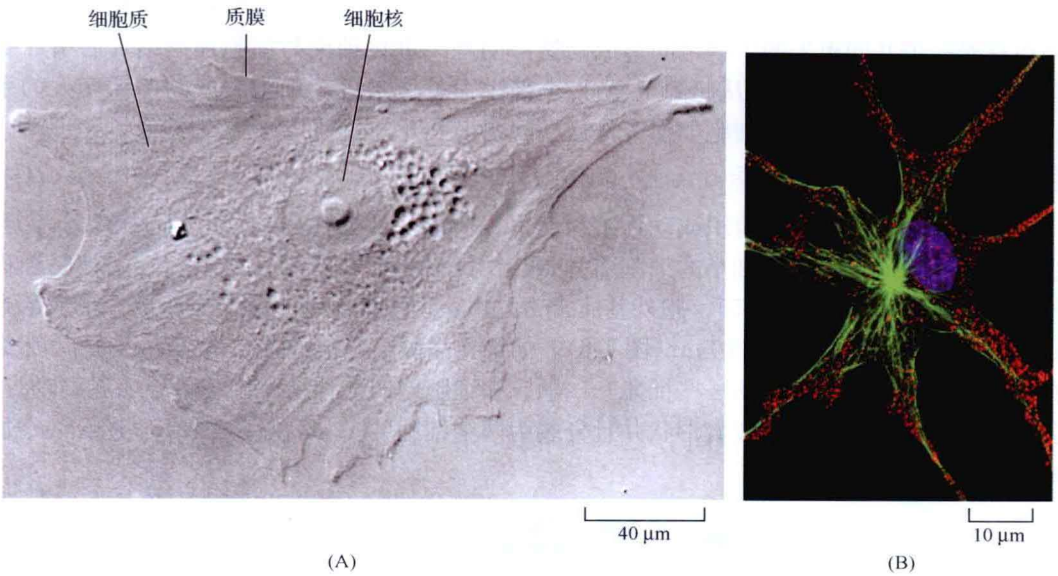


图 1-7 光学显微镜下看到的一个活细胞的内部结构。(A) 取自人皮肤并在组织培养中生长的一个细胞。在光学显微镜相差镜头下拍摄(图版 1-1),核特别明显。(B) 从蛙中得到的一个色素细胞,用荧光染料染色并用激光共聚焦显微镜观察(图版 1-1)。细胞核是蓝色的,颗粒是红色的,微管(一类细胞质中的蛋白质构成的纤维)是绿色的。(A 蒙 Casey Cunningham 惠许, B 蒙 Lynne Cassimeris 惠许)

通显微镜不能分辨小于 0.2 μm 的细节(0.2 μm 约为可见光波长的一半)。两点之间距离小于 0.2 μm 时它们之间无法区分,看起来是一个点。

在过去的几年中,人类研发出了很多种新型的荧光显微镜,使用复杂的照明方法和数据分析可以分辨比以前缩小好几倍的细节。然而,为求得更高的放大倍数和更好的分辨率,人们必须使用电子显微镜,它能揭示几**纳米**(nm)尺度的细节(图 1-6)。电镜的细胞样品需要精细的制备技术。即使是光学显微镜,通常也必须将组织*固定*(将组织泡在一种化学反应溶液中加以保存),包埋在固体蜡或树脂中而得以承托,切成薄片(*切片*),并在观察前*染色*。在电子显微镜术中也要求类似的操作,但切片必须极薄,而且电子显微镜不可能观察活的、湿的细胞。

当样品切成切片、染色并放进电子显微镜后,许多杂乱无章的细胞成分变成了清晰可辨的各种*细胞器*——它们在光学显微镜下只能被粗略地分辨。可以看到一种细软的约 5 nm 厚的膜包围着细胞,类似的膜还形成细胞内许多细胞器的边界(图 1-8A 和 B)。外膜称为*质膜*,而包围细胞器的膜称为*内膜*。用电子显微镜甚至能看到细胞内的一些大分子(图 1-8C)。

用于观察组织薄切片的电子显微镜为*透射电子显微镜*。从原理上看,这种显微镜与光学显微镜相似,但不同的地方在于它是由一束电子而不是光来穿过样品。另一种形式的电子显微镜——*扫描电子显微镜*——用于观察细胞的表面细节及其他一些结构(图版 1-1)。电子显微镜使得生物学家能观察到只有两层分子厚的生物膜的具体结构(具体将在第 11 章中讨论)。然而,即使用最强的电子显微镜,人们也不能看到那些构成分子的一个个原子(图 1-9)。

显微镜并不是现代生物学家唯一用于研究具体细胞组成的工具。一些新技术如 X 射线结晶学可以被用来观察蛋白质分子的三维结构(在第 4 章中讨论)。其他一些用于探究细胞内工作的方法我们会在书中出现时随时加以描述。

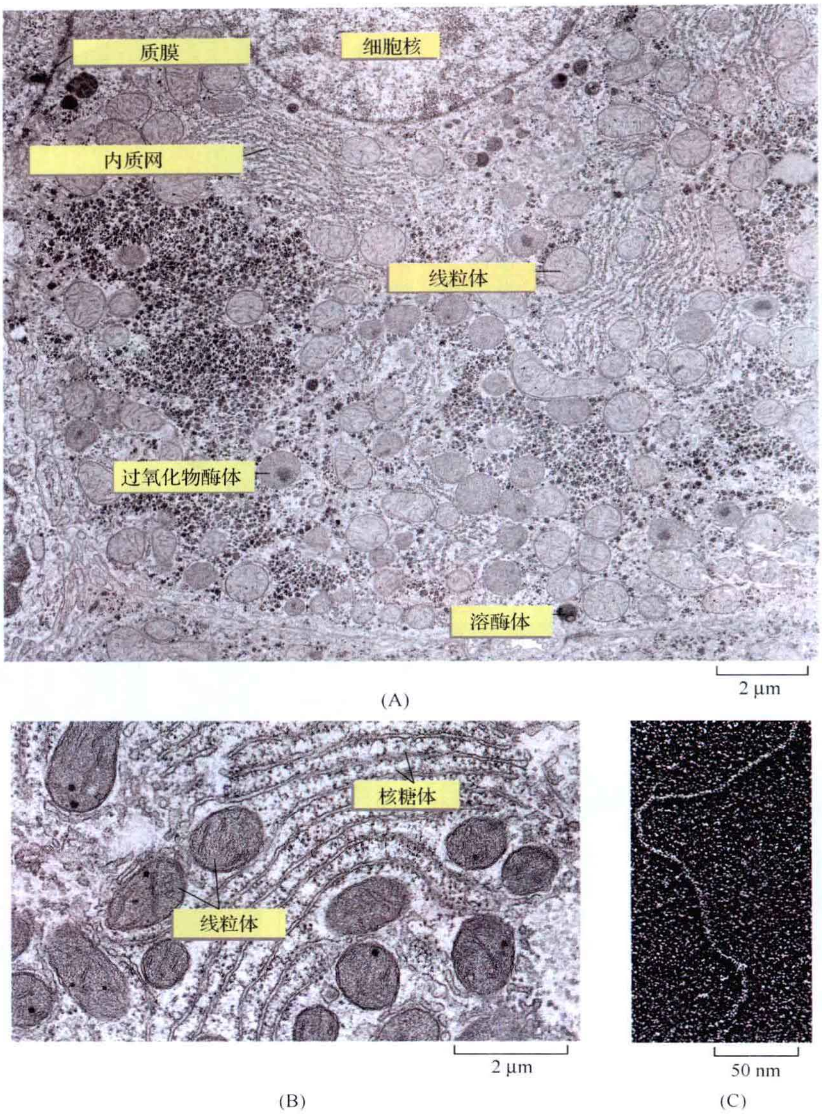


图 1-8　在透射电子显微镜中看到的一个细胞的精细结构。(A) 一个肝细胞薄切片上可以看到大量细节，并标出了本章中将要讨论的一些组分，根据它们的大小和形状可加以辨认。(B) 更高倍数显示细胞质的一个小区。清晰可见的最小结构是核糖体，每一个核糖体由 80～90 个单一的大分子组成。(C) 从细胞中分离得到的一个长线状 DNA 的一部分，用电子显微镜观察。(A 和 B 蒙 Daniel S. Friend 惠许，C 蒙 Mei Lie Wong 惠许)

1.3　原核细胞

所有在显微镜下揭示的细胞类型中，细菌的结构最简单。利用细菌，可以最详尽地剖析生命的本质。确实，细菌基本上不含细胞器，甚至连包住 DNA 的细胞核都没有。细胞核的存在与否被用作对一切生物进行简单但基本的分类基础。在细胞中有细胞核的生物体称为**真核生物**(eukaryote，来自希腊字 *eu*，意指“好的”或“真的”，而 *karyon* 指一个“果实的核”或“核心”)，而在细胞中没有核的生物称为**原核生物**(prokaryote，源自希腊字 *pro*，意指“以前”)。一般来说“细菌”和“原核生物”这两个词可以交换使用，尽管我们将看到在原生动物的分类上，还包括另

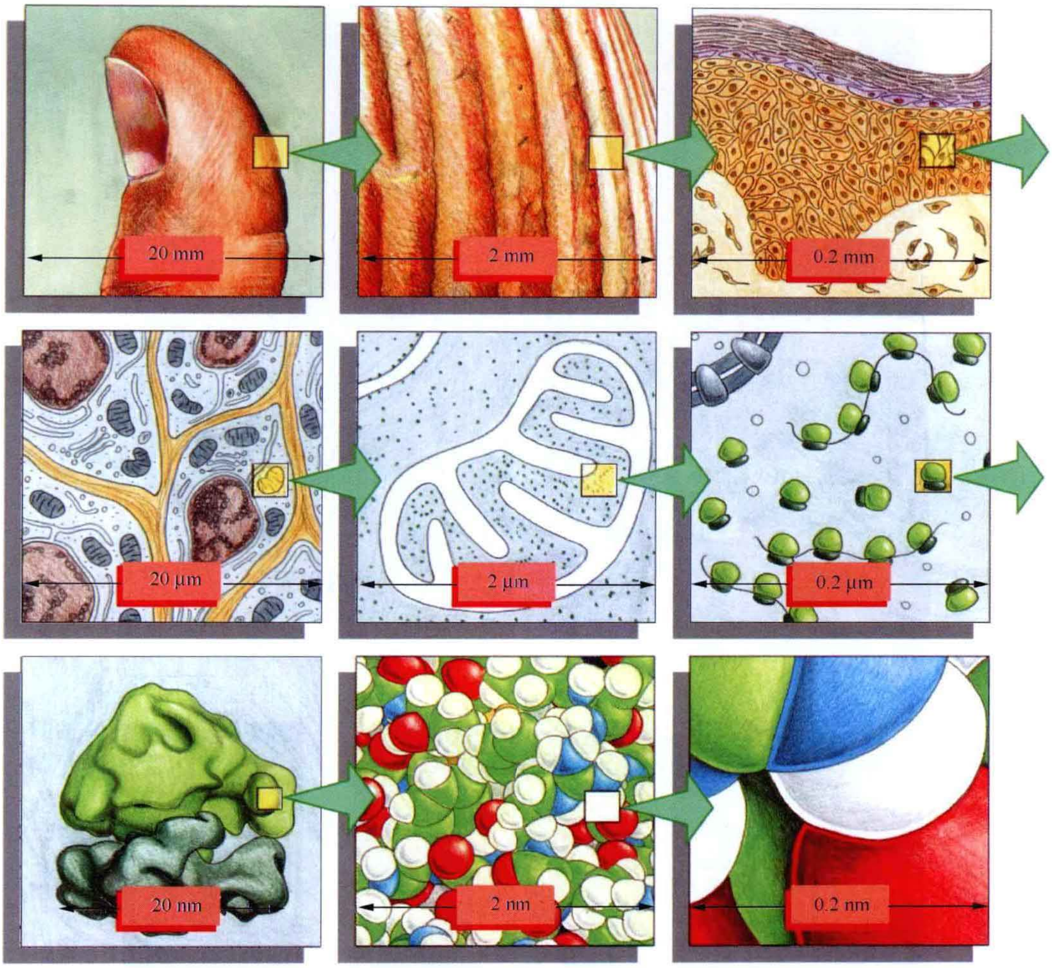
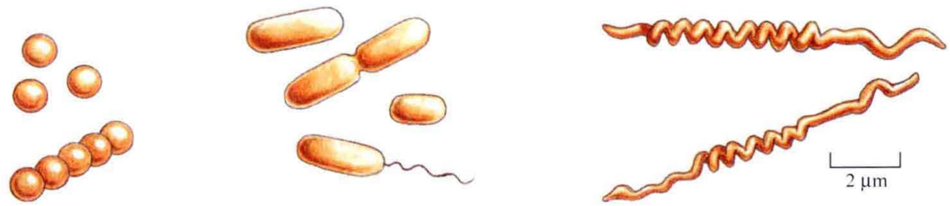


图 1-9　**细胞有多大？它的组分有多大？这些图画表达了从活细胞到原子的尺度。**系列中每一张图的放大倍数是前一张的 10 倍，从拇指，到皮肤，经皮肤细胞，到一个线粒体、一个核糖体，直到一簇原子（它是组成我们身体的许多蛋白质分子之一的一部分）。最后两张图表示分子结构的细节，这些细节已无法通过电子显微镜观察到。

一类细胞——古细菌，但它们和细菌的关系很遥远，所以我们给了它们另一个名字。

细菌一般是呈球状、杆状或螺旋状的细胞，长数微米（图 1-10），尽管有些巨型种可长于此 100 倍。它们常有一层粗糙的外衣，后者称为细胞壁，其里面的一层质膜包围着单独一个区室，



球状细胞，如链球菌（*Streptococcus*）　杆状细胞，如大肠杆菌（*Escherichia coli*）、沙门氏菌(*Salmonella*)　螺旋形细胞，如梅毒密螺旋体（*Treponema pallidum*）

图 1-10　**细菌有不同的形状和大小。**图中画的分别是典型的球状、杆状和螺旋状细菌。其中螺旋状的细胞是一种能引起梅毒的细菌。

其中含有细胞质及 DNA。在电子显微镜下，这种细胞内部典型地呈现为一种质地多样的基质，没有任何明显的有组织的内部结构(图 1-11)。细菌以一分为二的方式快速繁殖。当条件合适、食物丰富时，一个细菌可以在 20 min 的时间内通过分裂复制自己，这样，不到 11 h 它就能产生约 80 亿个后代(约等于现代地球上人口的总数)。由于它们数量大、生长快，细菌群体能因此快速进化，以及能通过类似性的过程交换一点遗传物质，迅速地获得能力去利用一种新营养源或抵抗一种新抗生素的灭菌作用。

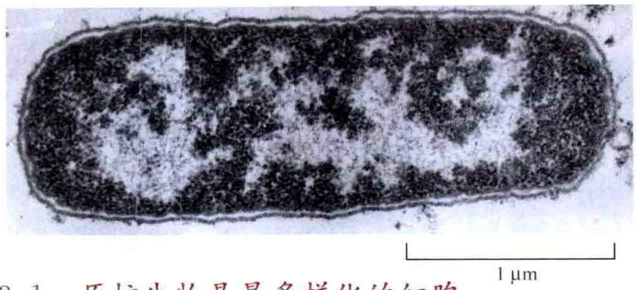


图 1-11 对大肠杆菌比其他任何一种生物都了解得透彻。这里表示一个大肠杆菌纵切片的电子显微镜照片。这个细胞的 DNA 集中在染色浅的区域。(蒙 E. Kellenberger 惠许)

1.3.1 原核生物是最多样化的细胞

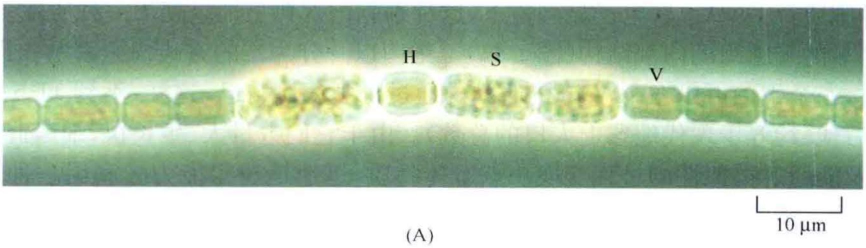
虽然有些原核生物形成串、团簇及别的有组织性的多细胞结构，但大部分原核生物以单细胞形式生活。细菌的形态及结构可能看来简单而有限，但在化学方面它们是最具多样化且最有创造性的细胞。细菌开辟了一个庞大的栖息分布区，从炽热的火山泥潭直至其他生物细胞的内部，并且在数量上大大超过其他生物。有些细菌是喜氧的，用氧去氧化食物分子；有些是厌氧的，回避富氧环境，最少量的一点氧就会杀死它们。就如我们在本章后面所讨论的，为真核细胞生产能量的细胞器——线粒体，被认为是由那些开始生活在现今真核细胞的厌氧祖先细胞内部的好氧细菌进化而来，因此我们自身的基于氧的代谢活动也可以看作是细菌活动的结果。

其实任何有机物，从木料到石油，都可以被这种或那种细菌当作养料利用。更值得注意的是，有些原核生物可以完全依靠无机物质生活，从大气中的 CO_2 获取碳，从大气中的 N_2 获得氮，从空气、水及无机矿物质中获取氧、氢、硫及磷。这些原核细胞中的一部分与植物细胞相类似，进行光合作用，利用阳光获取能量(图 1-12)；另一些细菌从环境中的无机物的化学反应中获得能量(图 1-13)。在这两种情形下，此类细菌在地球生命系统中起着一种特殊和基本的作用：它们用无机材料生产出其他生物所依赖的有机物。

植物是一个例外，它们可利用阳光获取能量并利用大气 CO_2 获取碳。但是若没有细菌帮助，植物不能从大气中捕获氮，并且在某种意义上植物依赖细菌进行光合作用。如我们在前文中提到的，几乎可以肯定植物细胞中实现光合作用的细胞器——叶绿体——是从光合细菌演化而来，光合细菌在植物细胞质内找到了家。

1.3.2 原核生物的世界被分为两类：真细菌和古细菌

传统上认为一切细菌都属于同一大类。但是分子生物学的研究揭示，在原核生物界中有一条鸿沟把它分成两个不同的部分，称为**细菌**(有时也叫真细菌)及**古细菌**。值得注意的是，在分子层面上，这两大类细菌之间的区别几乎与它们同真核生物之间的区别一样大。日常生活中所熟悉的细菌即生活于土壤中的或使我们致病的是真细菌。古细菌通常不光在上述环境中存在，还出现于对其他细胞有害的环境中：有些种生活在盐度很高的海水中、在酸性的火山热泉中、在无空气的海洋沉积层中、在污水处理厂的淤泥中、在南极洲冰冻的表面下以及在牛胃的酸性无氧环境中，它们分解纤维素并产生甲烷气。这些环境有许多与远古地球上肯定一度存在过的严酷条件相似，在空气富含氧气之前，生物最早是在那里进化的。



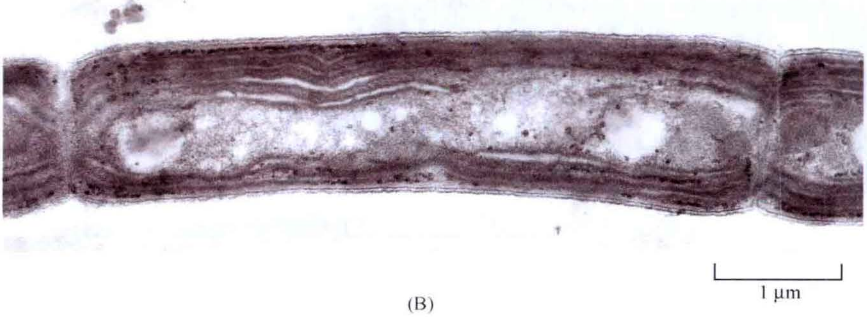


图 1-12 光合细菌的两种类型。(A) 光学显微镜中看到的柱孢鱼腥蓝细菌(*Anabaena cylindrica*)。这些原核细胞形成长长的多细胞丝状体,其中特化的细胞或者固定氮(从空气中捕获氮气并将其整合入有机化合物,用 H 标记),或者固定 CO_2(通过光合作用,用 V 标记),或成为厚壁孢子(S)。(B) 层理席蓝细菌(*Phormidium laminosum*)的电子显微镜照片,显示它的细胞内膜,那是它进行光合作用的部位。这些显微图像说明即使是一些原核细胞也能形成简单的多细胞生物体。(A 蒙 David Adams 惠许,B 蒙 D. P. Hill 和 C. J. Howe 惠许)

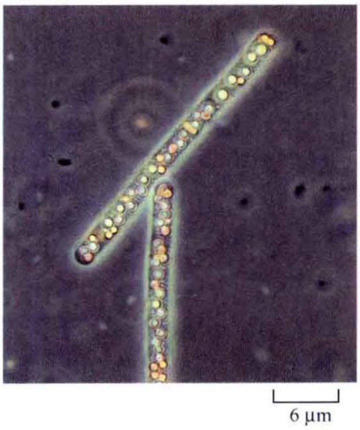


图 1-13 硫细菌从 H_2S 中获得能量。贝日阿托菌(*Beggiatoa*)是生活在含硫环境中的原生动物,通过氧化 H_2S 产生硫,即使在暗环境中也可固定碳。在这张光学显微镜照片中,请注意细胞内黄色的硫沉积物。(蒙 Ralph W. Wolfe 惠许)

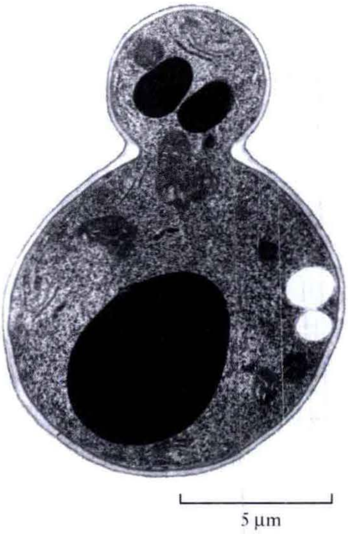


图 1-14 酵母细胞是简单的自养真核细胞。在电子显微镜下看到的这个细胞与用来发面团以及将发芽的大麦汁转变成啤酒的 *Saccharomyces cerevisiae* 是同一种酵母。它们繁殖时先出芽,进而不对称分裂为一大一小两个子细胞。这两个细胞都含有一个细胞核(暗色);但在小的子细胞中,这个细胞核的形状不规则,切片时正好通过它的两个分开的区域。(蒙 Soren Mogelsvang 和 Natalia Gomez-Ospina 惠许)

1.4 真核细胞

一般来说,真核细胞要比真细菌和古细菌更大些,而且更复杂些。许多独立生活的单细胞生物,如酵母、变形虫等都是真核生物(图 1-14),另外一些则生活在多细胞聚集体中。一切比较复

杂的多细胞生物，包括植物、动物及真菌，都是由真核细胞组成。

根据定义，所有的真核细胞都有一个细胞核。但拥有细胞核与拥有各种其他细胞器（即行使特定功能的亚细胞结构）是紧密关联的，在所有真核生物中它们的大部分都很相似。我们现在从它们的功能角度出发来学习一下在真核细胞中发现的一些主要的细胞器。

1.4.1 细胞核是细胞的信息存储器

细胞核通常是一个真核细胞中最显而易见的细胞器（图 1-15），它被包裹在两层同心膜中，这两层同心膜形成*核被膜*。细胞核中含有 DNA 分子——一种极长的聚合物，编码生物的遗传特性。当一个细胞准备分裂成两个子细胞时，这些巨大的 DNA 分子聚集得更紧密，各自形成在光学显微镜下能看到的**染色体**（图 1-16）。DNA 在原核细胞中也作为遗传信息存储器，然而，这些细胞并不将 DNA 包裹在核被膜中，所以在原核细胞中看不到明显的细胞核。

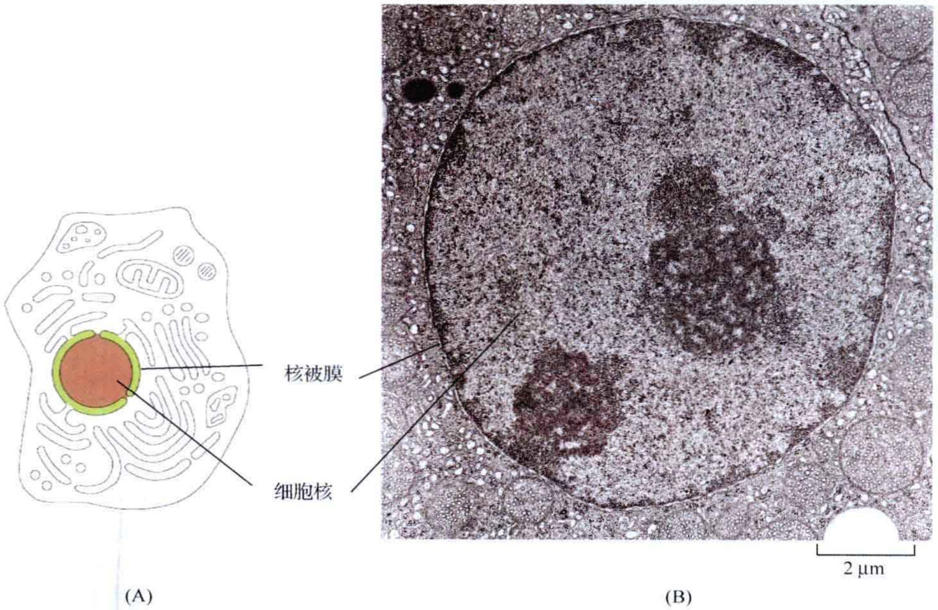


图 1-15 细胞核包含真核细胞中绝大部分 DNA。（A）这张图显示了一个典型的动物细胞及它所有的膜被细胞器。细胞核以棕色表示，核被膜以绿色表示，细胞质（细胞核外的胞内部分）以白色表示。（B）一个哺乳动物细胞核的电子显微镜照片。未见一条条的染色体，因为在细胞生长的这个阶段，DNA 以细丝形式分散在整个细胞核中。（A 蒙 Daniel S. Friend 惠许）

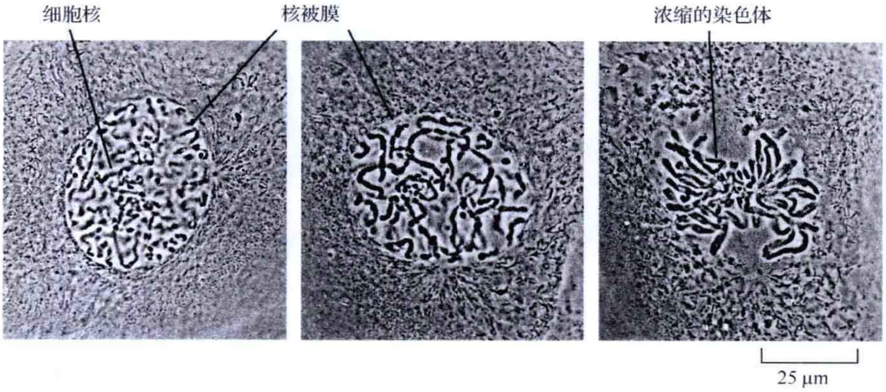


图 1-16 一个即将分裂的细胞中的染色体。当一个真核细胞准备分裂时，它的 DNA 浓缩成条状的染色体，可在光学显微镜下识别它们。这些照片显示在一个培养的蝾螈肺细胞分裂过程中的三个连续的阶段。（蒙 Conly L. Rieder 惠许）

1.4.2 线粒体利用食物产生能量而赋予细胞动力

作为胞质内最引人注目的细胞器之一,**线粒体**基本上存在于一切真核细胞中(图 1-17)。通过电子显微镜可以看到它们有一种很特别的结构:每一个线粒体呈香肠状或蠕虫状,其长度为一至数微米;每一个均由两层独立的膜包裹着。内膜延伸成褶并伸展至线粒体内部(图 1-18)。线粒体含有它们自己的 DNA 并以一分为二的方式增殖。因为它们与细菌有许多相似之处,因此设想它们由被现代真核细胞的某个祖先吞食的细菌衍生而来(图 1-19)。这明显地建立起了一种共生关系,其中宿主真核细胞与被吞入的细菌相互依存、共同繁殖。

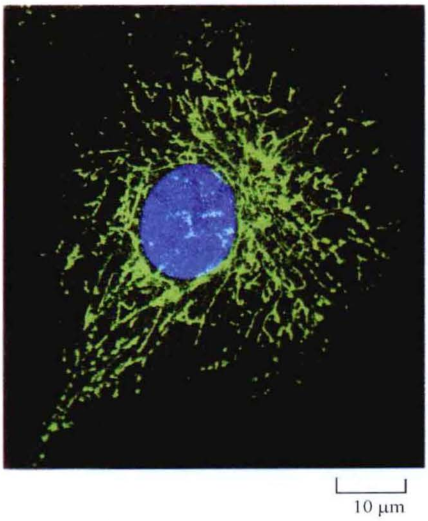


图 1-17 在光学显微镜中看到的线粒体。在这个培养的哺乳动物细胞的光镜照片中,线粒体呈蠕虫状,被一种荧光染料染成绿色。细胞核染成蓝色。线粒体是能量发生器,几乎在一切真核细胞中氧化食物分子,从而产生可利用的化学能。(蒙 Lan Bao Chen 惠许)

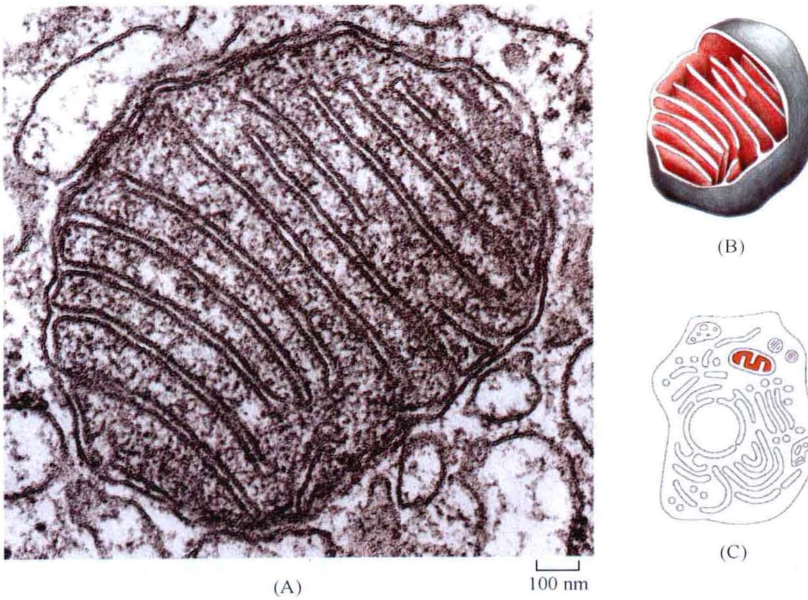


图 1-18 线粒体有独特的结构。(A) 线粒体横切面的电镜照片,显示其大面积的内膜折叠。(B) 线粒体膜三维布局的说明。注意光滑的外膜及高度褶卷的内膜。内膜包含了担负细胞呼吸作用的大部分蛋白质,它的高度折叠为这种活动提供了一个面积巨大的场地。(C) 细胞示意图中,线粒体的内部空间以褐色表示。(A 蒙 Daniel S. Friend 惠许)

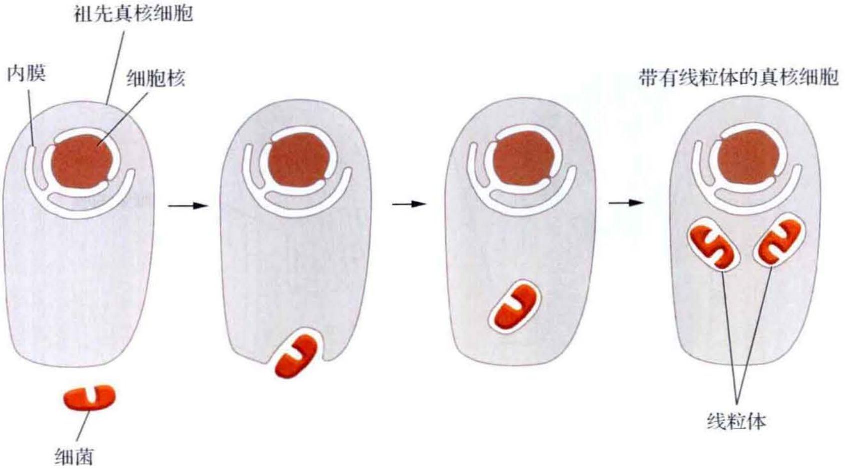


图 1-19 线粒体很可能起源于被吞噬的细菌。事实上已确定线粒体起源于被一种祖先真核细胞吞噬的细菌，这种细菌在祖先真核细胞中存活下来，并与宿主一起营共生生活。

只用显微镜观察不到多少有关线粒体有什么功能的迹象。线粒体的功能可通过以下方法被发现：先破碎细胞，并在离心机中离心细胞碎片混合液，根据细胞器的大小、形状和密度将它们分离。然后测试纯化的线粒体，看它们可以完成什么化学过程。这样就揭示出线粒体是细胞的化学能发生器。它们利用来自食物分子如糖的氧化作用产生的能量，用于生产基本的化学燃料腺苷三磷酸，即 ATP。ATP 是驱动细胞大多数活动的化学燃料。由于在此过程中，线粒体消耗氧并释放二氧化碳，故整个过程被称为*细胞呼吸*，即细胞水平的呼吸。有关呼吸作用的具体过程将在第 14 章中进行详细的介绍。

没有线粒体，动物、真菌及植物就不能利用氧从它们的食物分子中获取最大的能量，对于它们来说氧就成为毒物而不是生存的基本需求了，也就是说，它们是*厌氧生物*。许多原核生物以及少数真核生物是厌氧的，比如肠道寄生虫 *Giardia*，它缺少线粒体且只能生存在低氧环境中。

1.4.3 叶绿体从日光捕获能量

叶绿体是大的绿色细胞器，只在植物和藻类细胞中出现，动物细胞及真菌细胞中则没有。它具有比线粒体更复杂的结构，除了周围的两层膜以外，叶绿体内还有含绿色的色素即*叶绿素*的膜的堆积（图 1-20）。植物处于黑暗中时，其绿色会褪去；当将它放回光线下时，绿色又会回复。这提示叶绿素及含有叶绿素的叶绿体对植物和藻类与光的特殊关系有决定性的作用。但是这个关系是什么呢？

动物及植物的生存、生长和繁殖皆需能量。动物只能利用通过摄取其他生物产物而获得化学能。但是植物能直接从太阳光取得能量，叶绿体是使植物能够这样做的细胞器。从地球上生命的立场出发，叶绿体执行一种甚至比线粒体更重要的任务：它们实现光合作用，即它们在叶绿素分子中捕获太阳能，并利用这种能量驱动富能糖分子的制造过程。在这个过程中它们释放作为分子副产品的氧。然后当需要时，植物细胞如动物细胞那样，用它们的线粒体氧化这些糖，从而可以提取这种储存着的化学能。叶绿体既生产食物分子，又产生一切线粒体所需要的氧。我们将在第 14 章中解释叶绿体具体是怎么做的。

像线粒体那样，叶绿体含有它们自己的 DNA，通过分裂为二来繁殖自己。它也被认为是从细菌演化而来的——是光合细菌由于某种未知原因被古代真核细胞吞入了胞内的结果（图 1-21）。

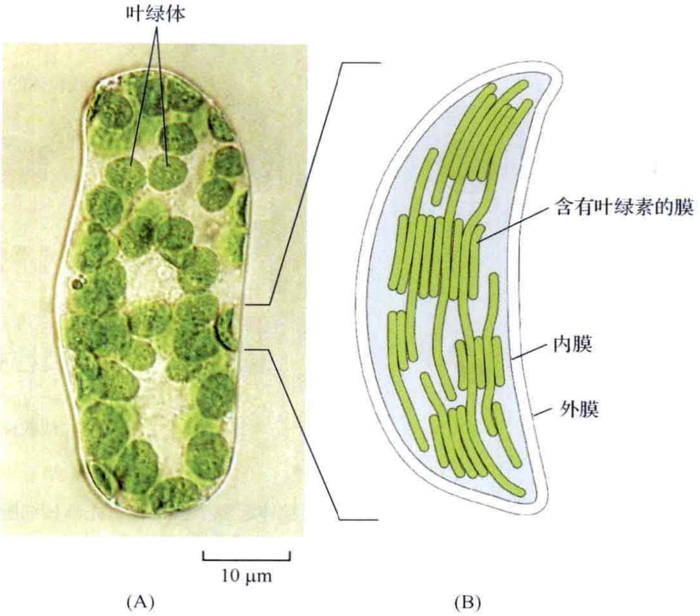


图 1-20 叶绿体在植物细胞中捕获太阳光。(A) 光学显微镜中看到的一种从开花植物的叶子中分离的细胞，显示许多绿色的叶绿体。(B) 图示一种叶绿体，显示其高度折叠的内膜，包含绿色的叶绿素分子，它们能吸收太阳光。(A 蒙 Preeti Dahiya 惠许)

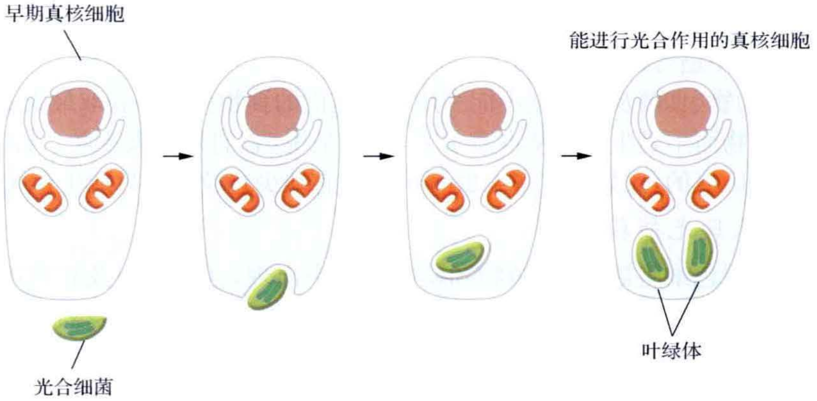


图 1-21 几乎可以肯定叶绿体起源于被吞噬的细菌。叶绿体被认为起源于共生的光合细菌，这种细菌被已具有线粒体的早期真核细胞摄入胞内。

1.4.4 内膜创建功能各异的胞内区室

真核细胞中的膜被细胞器不只有细胞核、线粒体及叶绿体。细胞质中含有极其丰富的其他细胞器——它们大多数只被一单层膜包裹着——以实现许多不同的功能。它们大多数参与细胞的输入"原材料"并输出"制成品"及"废物"的功能。有些膜被细胞器在特化为专门分泌蛋白质的细胞内极度扩展，另一些在特化为专门分解外源物体的细胞中特别丰富。

内质网(ER)是由膜包围的具有内部相通空间的不规则迷宫(图 1-22)，是制造大部分细胞膜成分以及最后输出细胞物质的地方。膜围成的扁平囊体堆积构成高尔基体(图 1-23)，它接受内质网中制造的分子，并常对这些分子进行化学修饰，然后把它们输向细胞之外，或胞内其他各

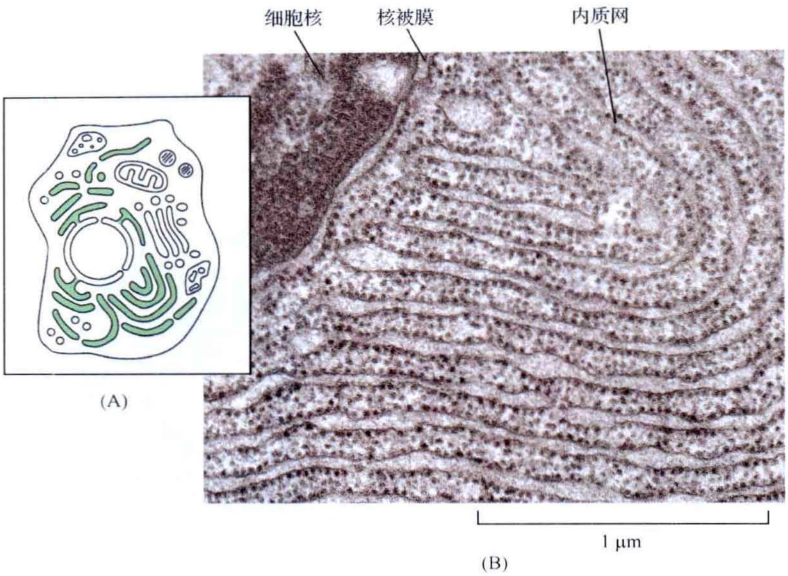


图 1-22 细胞的许多成分是在内质网(ER)中生产的。(A) 一种动物细胞的模式图,绿色部位是内质网。(B) 一个哺乳动物胰腺细胞薄切片的电子显微镜照片,显示一小部分内质网(ER)。注意内质网与核被膜相连。粘在 ER 特殊区域上的黑色颗粒是核糖体:执行蛋白质分子合成的装置。(B 蒙 Lelio Orci 惠许)

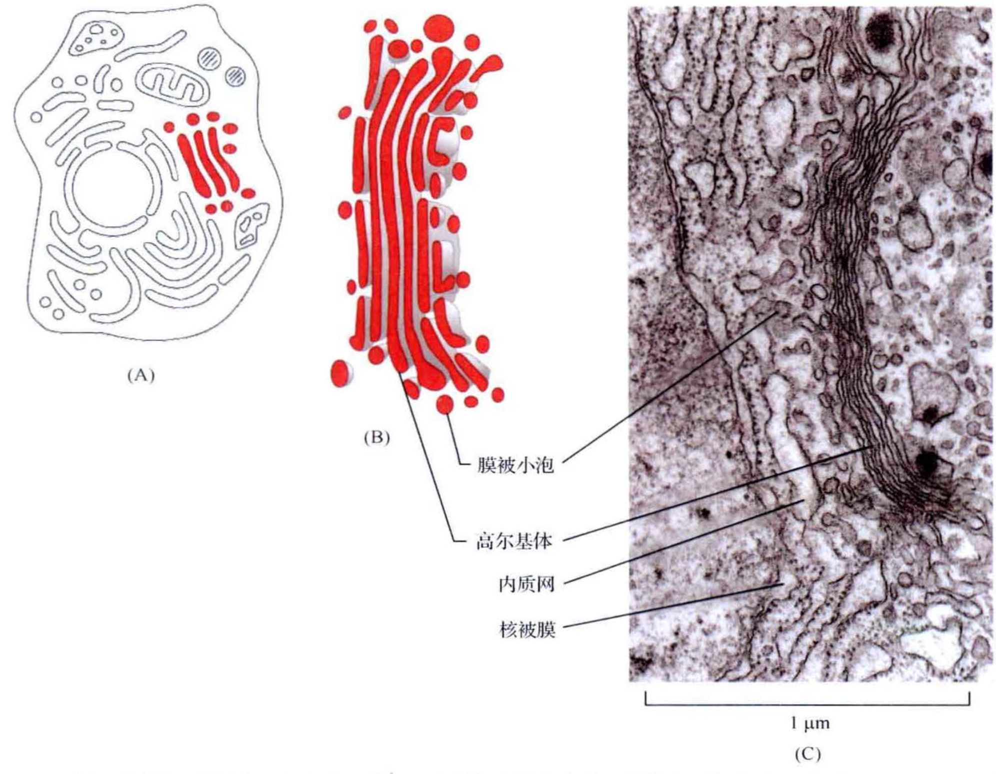


图 1-23 高尔基体像一垛摞在一起的扁平碟子。这种细胞器在光学显微镜中刚好能看到,但常常不易察觉。高尔基体参与合成及包装那些最终将被细胞分泌出去的分子,并且为新合成的蛋白质确定运送路线,使它们能够前往正确的胞内区室。(A) 一个含有高尔基体的动物细胞模式图(高尔基体画成红色)。(B) 根据电子显微镜图像画出的高尔基体图。它由一层层重叠着的扁平膜囊组成,周围有许多微小的膜性小泡,有的正从它上面突起并生成,而有的正要与其融合。在每个细胞中可以有多个叠层(这里只显示一个)。(C) 一个典型的动物细胞的高尔基体电子显微镜照片。(C 蒙 Brij J. Gupta 惠许)

个位置。溶酶体是较小的、形状不规则的细胞器，在其中进行着胞内分解作用，把养分从食物颗粒中释放出来，降解不需要的分子用于再循环或排泄掉。过氧化物酶体是微小的、膜包围着的小泡，提供了一个密封的反应环境。在这里，有一种危险的活性化合物——过氧化氢产生并分解。膜也形成各种类型的小泡，它们参与一种膜被细胞器与另一种膜被细胞器之间的物质输运。这种相互关联的完整的细胞器系统可见于图 1-24A中。

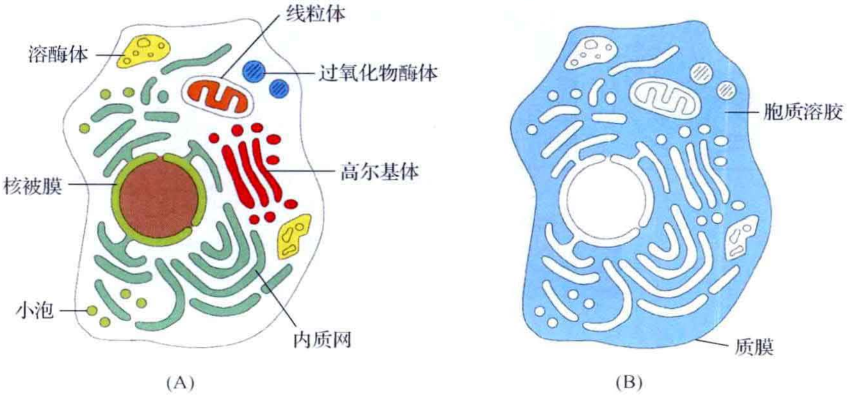


图 1-24　膜被细胞器在胞质溶胶的各处分布。(A) 真核细胞中有各种以膜为边界的区室。每一种区室执行特定的功能。(B) 除这些细胞器以外，细胞的其余部分称为胞质溶胶(蓝色)，这是细胞进行许多重要活动的场所。

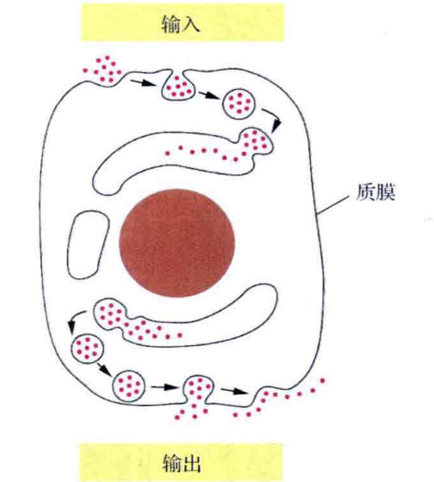


图 1-25　细胞的内吞与胞吐。细胞可以将外界物质捕入由质膜通过内陷所形成的小泡中，从而从外部介质向胞内输送物质。小泡最后与溶酶体融合，在溶酶体内进行胞内的分解作用。借助一个与之相反的过程，细胞输出那些在胞内区室中合成的物质：这些物质储存在胞内的小泡中，当小泡与质膜融合时，细胞便向外界释放出这些物质。

在内质网、高尔基体、溶酶体及细胞外围之间不断地进行着物质交换。这种交换是由小的膜被小泡介导的，小泡从一种细胞器上突起生成，再与另一个细胞器融合，就像小肥皂泡从大的肥皂泡上生出又与更大的肥皂泡融合一样。例如，在细胞表面，部分质膜内陷，以向内生成小泡，从而把小泡内载有的从胞外介质中捕获的物质运入胞内(图 1-25)。这些小泡一般最终与内体融合，后者成熟成为溶酶体，其中的捕获物被消化。很大的颗粒，甚至是整个外来细胞，都能以这种方式被动物细胞内吞。相反的过程叫外吐，这也是细胞的一种普遍活动即来自细胞内部的小泡与质膜融合，并将它们的内含物释放至外部介质中(图 1-25)。很多激素、神经递质和其他信号分子通过外吐从细胞中分泌出来。这些膜包被的细胞器是如何将蛋白质和其他分子从一个地方转运到另一个地方的这一问题将在第 15 章中进行具体的讨论。

1.4.5　胞质溶胶是一种浓缩的大分子和小分子的含水凝胶

如果我们剥掉一个真核细胞的质膜，然后除去它的全部膜被细胞器，包括线粒体及叶绿体，那么就会留下**胞质溶胶**(图 1-24B)。换句话说，胞质溶胶是不被内膜分隔开的那部分细胞质。在大部分细胞中，胞质溶胶是最大的一个区室。它包含着许多大大小小的分子，这些分子如此紧密地挤在一起，表现得更像水基凝胶而不是液体溶

液(图 1-26)。胞质溶胶是许多对细胞生存极为重要的化学反应的场所。例如,养料分子降解过程的起初几步就是在胞质溶胶中发生,细胞的几个关键性合成过程之一——蛋白质的制造也在这里进行。在电子显微镜下可以看见制造蛋白质分子的微型分子机器,它们呈现为胞质溶胶中的那些小颗粒,往往附着在内质网的胞质面上,我们称它们为**核糖体**(图 1-8B 和图 1-22B)。

图 1-26 细胞质中充满了细胞器以及一大群大小不等的分子。这张模式图是根据胞质溶胶中分子的已知大小及浓度绘成的,表示细胞质有多么拥挤。全景图从左端细胞表面开始,经过内质网、高尔基体及一个线粒体而终止于最右端的细胞核。注意有些核糖体(大的粉红色物体)在胞质溶胶中是游离的,但有些附着在内质网上。(蒙 D. Goodsell 惠许)

1.4.6 细胞骨架负责细胞运动

然而,胞质溶胶不只是化合物和细胞器的一种无结构汤汁。在电子显微镜下可以看到真核细胞内又细又长的蛋白质丝纵横交错地分布在胞质溶胶中。常常可以看到这些细丝的一端锚连在质膜上,或者从细胞核近旁的中央部位向外辐射开去。这个纤维蛋白质丝构成的系统被称为**细胞骨架**(图 1-27)。最细的丝是肌动蛋白丝。一切真核细胞都有肌动蛋白丝,它在肌细胞中的含量特别大,在那里它是肌细胞产生收缩力的机器的一部分。最粗的丝称为微管,因为它们具有细细的中空管道形状。在正在分裂的细胞中它们会重新组织成引人注意的一些系统,帮助把已复制好的染色体拉向相反的方向,将染色体平分给两个子细胞(图 1-28)。粗细介于肌动蛋白丝及微管之间的是中等纤维,它加强细胞的机械强度。这三种纤维以及与它们连接的其他蛋白质一起形成一种"梁"、"索"和"马达"系统,赋予细胞机械强度,控制细胞的形状并且驱动和引导细胞运动(视频 1.2 和视频 1.3)。

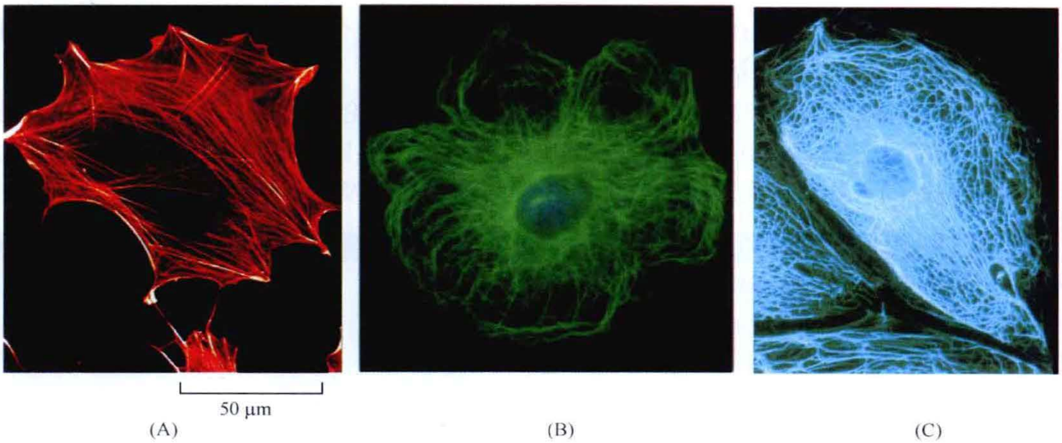


图 1-27 细胞骨架是纵横交织在真核细胞细胞质中的纤维网络。一切真核细胞都有一套由蛋白质丝组成的细胞内部的构架。它不仅有助于细胞内部活动的条理化,而且是细胞运动及形态变化的基础。这里表示培养细胞中的肌动蛋白丝(A)、微管(B)和中等纤维(C)。不同类型的纤维可以用不同的荧光染料标记而显示。(A 蒙 Simon Barry 及 Chris D'Lacey 惠许,B 蒙 Nancy Kedersha 惠许,C 蒙 Clive Lloyd 惠许)

因为这个骨架系统掌控着细胞的内部组织和外部特性,因此对于能自由弯曲、伸展、游动或爬行的动物细胞以及对于装在坚固的胞外基质壁外壳里的一个植物细胞而言,细胞骨架都是必需的。例如,在一个植物细胞中,细胞器如线粒体被驱使沿着细胞骨架轨道不停地在细胞内流

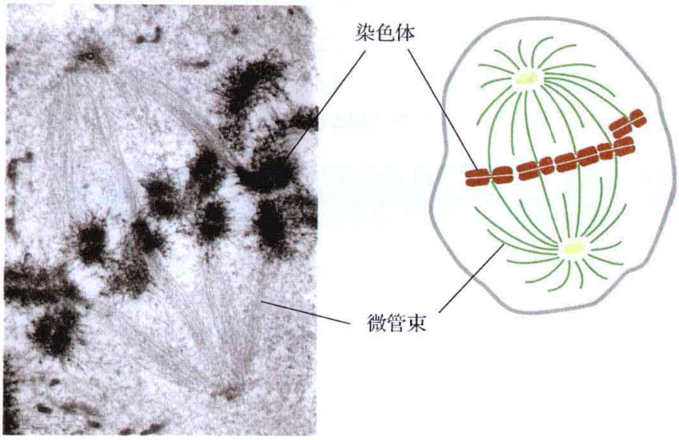


图 1-28　微管帮助正在分裂的细胞分配染色体。当一个细胞分裂时，其核被膜解离，且其 DNA 浓缩成可见的染色体对，它们被微管拉开至两个分离的子细胞中。在这个透射电镜照片中，微管从分裂细胞相对的两极会聚点辐射出去。（照片蒙 Conly L. Rieder 惠许）

动着，而动物细胞及植物细胞同样依靠细胞骨架在细胞分裂期间将它们内部的成分分成两套给子细胞。细胞骨架在细胞分裂中的作用可能是它最古老的功能了，甚至细菌也拥有一些与真核生物肌动蛋白丝和微管关系较远的蛋白质，它们也在原核细胞分裂中起部分作用。我们将在第 17 章中详细考量细胞骨架，并在第 18 章中讨论细胞分裂的规律和在第 16 章中学习其对外界环境信号的响应。

1.4.7　细胞质远远不是静态的

细胞内部是不断运动的。细胞骨架是一个“动态的绳索”与“棍棒的密林”，它们不断地捆绑聚集和拆开。这些蛋白质微丝能互相组合，并能在短短几分钟内消失。沿着它们组成的轨道和索桥，细胞器和膜泡忙碌地来来回回，在一秒钟内横穿过整个细胞。内质网和填充了细胞中每一个游离空间的分子都处于“疯狂的热骚动”中。未结合的蛋白质在周围快速移动，以致尽管它们的移动都是随机的，但却能在短短几秒内访问到细胞的每一个角落，不断地与较小的有机分子在它们组成的混乱的“沙尘暴”中碰撞。

当然，当科学家们通过显微镜第一次看到细胞的时候，不论是细胞内部复杂的性质还是细胞的具体结构都没有被意识到。我们关于细胞结构的知识积累得很缓慢。表 1-1列出了关于细胞及其细胞器的一些关键发现。图版 1-2 综述了动物、植物及细菌细胞间的差异。

表 1-1　决定细胞结构的历史性里程碑

1655 年	Hooke 用一架原始的显微镜描述软木片中的小孔，他称其为“**细胞**”。
1674 年	Leeuwenhoek 报告他发现了**原生动物**，9 年后他第一次看到**细菌**。
1833 年	Brown 发表他对兰花的显微镜观察结果，清晰地描绘了**细胞核**。
1838 年	Schleiden 和 Schwann 提出**细胞理论**，指出有核的细胞是动植物组织的结构单元。
1857 年	Koelliker 描述肌细胞中的**线粒体**。
1879 年	Flemming 非常清楚地描述了动物细胞**有丝分裂期间染色体的行为**。
1881 年	Cajal 及其他几位组织学家发展了染色方法，揭示了**神经细胞**及神经组织的结构。
1898 年	Golgi 用硝酸银给细胞染色，首次看到并描述了**高尔基体**。
1902 年	Boveri 观察有性繁殖时染色体的行为，将**染色体与遗传性**相联系。
1952 年	Palade、Porter 和 Sjötrand 发展出**电子显微镜**方法，从而首次看见许多胞内结构。在这个技术的首批应用中，有一个应用是 Huxley 指出肌肉含有蛋白质丝系统——细胞骨架的第一个证据。
1957 年	Robertson 描述了第一次在电子显微镜中看到的**细胞膜**双层结构。

续表

1960 年	Kendrew 通过 **X 射线晶体技术**第一次具体描述了一个分辨率达 0.2 nm 的**蛋白质的结构**(抹香鲸的肌红蛋白)。Perutz 提出了一个较低分辨率的**血红蛋白**结构。
1965 年	Christian de Duve 和他同事使用**细胞组分分离技术**从大鼠肝脏中成功分离了**过氧化物酶体、线粒体**和**溶酶体**。
1968 年	Petran 和其合作者制造出了第一台**共聚焦显微镜**。
1974 年	Lazarides 和 Weber 使用**荧光抗体**染色细胞骨架。
1994 年	Chalfie 和其协作者将**绿色荧光蛋白**(GFP)用作跟踪活体细胞中蛋白质行为的标记物。

1.4.8 真核细胞可能作为捕食者而起源

真核细胞通常是原核细胞长度的 10 倍和体积的 1000 倍(但在每一种类上有巨大的尺寸变动)。另外,它们拥有一整套特性——细胞骨架、线粒体和其他的细胞器——使得真核细胞与原核细胞区分开来。

关于真核细胞什么时候和怎样进化出这些系统的,这依然是一个谜。尽管在地球生命的历史上,真核细胞、真细菌及古细菌必定在很早的时候就已经相互分离(在第 14 章中讨论)。真核细胞并不是在同一时间获得它们全部特征的(图 1-29)。一种理论认为,古代的真核细胞是捕食者,以捕捉和吞噬其他细胞为生。这种生存方式需要巨大的体积、柔软的膜和一个细胞骨架来帮助细胞移动和吞噬。其中核区室可能进化用于将 DNA 隔离开来,来防止物理和化学上对其的干扰,这样才能使得这个细胞能以更精密复杂的方式阅读出它的遗传信息。

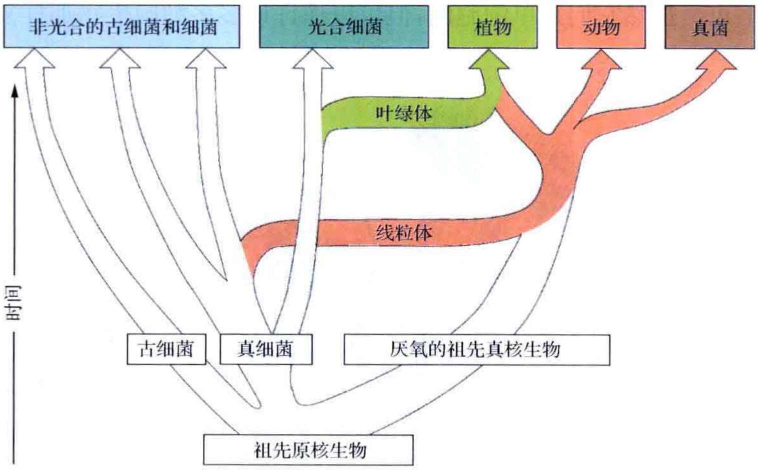


图 1-29 当代真核生物的进化起源。在地球生命进化的早期,真核生物、真细菌以及古细菌的谱系相互分离。很久以后,真核生物获得了线粒体;再晚一些,真核生物的一个分支获得了叶绿体;植物、动物及细菌的线粒体基本相同,因此设想线粒体是在这些分支分开之前获得的。

这样一个具有细胞核和细胞骨架的原始的真核细胞,很可能就是那种吞噬了自营耗氧细菌的细胞。而后者就成了线粒体的祖先(图 1-19)。这种合作关系被认为在 15 亿年前就建立起来了,那时候地球上的大气刚开始富集氧气。这些细胞中的一个亚群后来通过吞噬光合细菌获得了叶绿体(图 1-21,图 1-29)。

单细胞真核生物能够捕食和吞噬其他细胞,这也被那些自营的积极游动的**原生动物**的行为所证实。滴丁虫(*Didinium*)是一种大的食肉原生动物,直径约 150 μm——可能约为平均人细胞的 10 倍。它有一球形身体,围绕着两轮纤毛;除有一个非常像吻的突起外,其前端平坦(图 1-30)。滴丁虫用它的摆动的纤毛高速游动。当它遇到一个合适的猎物,通常是另一种原生动物时,它便从其吻区释放出许多微小的麻痹性飞镖。然后滴丁虫逮住那个细胞,变得像个空心球似的去吞食那个几乎有它自己那么大的猎物。

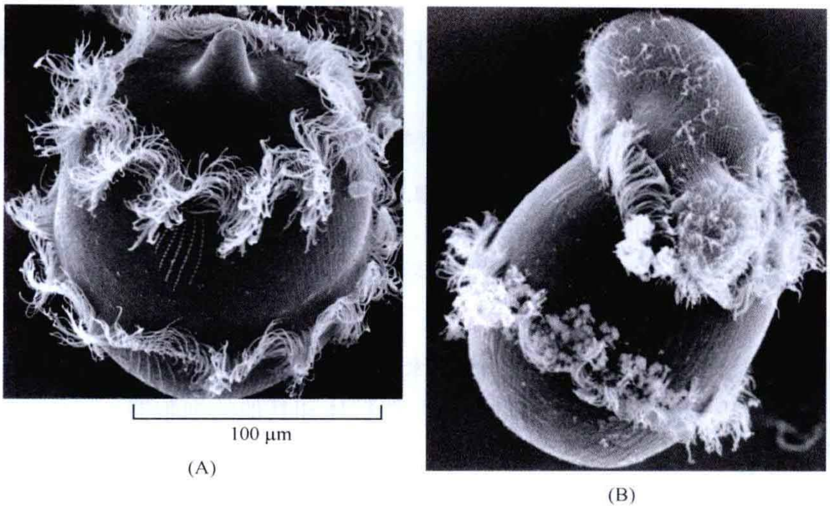


图 1-30　一个原生动物吞食另一个原生动物。左边的照片扫描电镜照片表示滴丁虫，它有圆形的搏动纤毛环，顶部有一个“吻”；右边的照片中可以看到它正在吞食另一个纤毛原生动物草履虫。(蒙 D. Barlow 惠许)

原生动物包括一些已知的最复杂的细胞。图 1-31 显示了原生动物形式多样的一些情形，它们的行为也同样变化多端：可以进行光合作用的，可以是肉食性的，可以是运动的，也可以是固着的。它们的解剖结构经常是精巧的，包括一些结构如感觉鬃、光感受器、摆动的纤毛、杆状附件、口器、刺射器及肌肉样收缩束。虽然它们是单细胞的，但可以像许许多多细胞生物那样复杂多变。

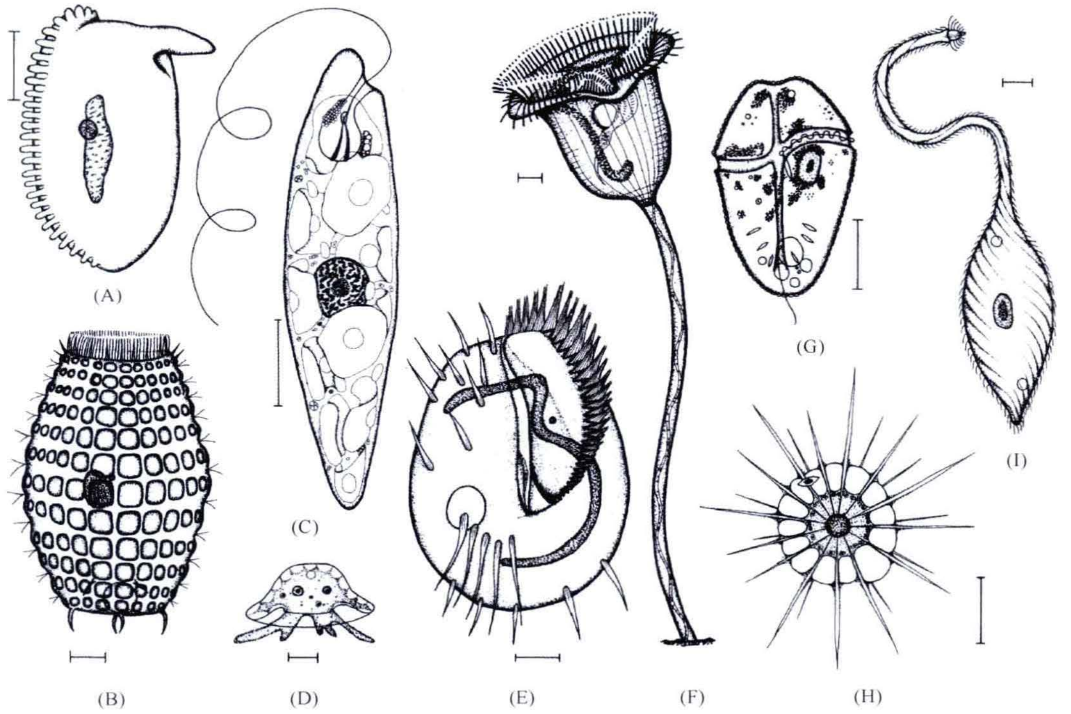


图 1-31　原生动物集锦，显示了这类单细胞微生物的庞大种群。图按不同比例画出，但是每例中的标尺都代表 10 μm。在(A)、(B)、(E)、(F)及(I)中的生物是纤毛虫；(C) 类眼虫鞭毛藻；(D) 变形虫；(G) 沟鞭藻；(H) 太阳虫(引自 M. A. Sleigh. The Biology of Protozoa. London: Edward Arnold, 1973)。观看视频 1.4 可看到类眼虫鞭毛藻的活动。

1.5 模式生物

所有的细胞都被认为是一个共同祖先细胞的后裔，而在进化中，这个祖先细胞的根本性质是保守不变的。因此，我们可以从研究一种生物所得到的知识用于其他种的生物，比如我们自己。某些生物在实验室中更容易被研究。一些生物繁殖得很快，并且可以很方便地对其进行基因上的操作，另外有一些是多细胞生物但是透明，以至于我们能直接观察到它们内部组织和器官的发育过程。因上述原因，许许多多的生物学家开始利用一些挑选出来的物种进行生物学不同方面的研究。将研究它们得到的知识汇总，可以获得比分开研究很多不同种生物有更为深入的认识。我们从这些研究中获得的信息帮助理解所有的细胞是如何工作的。尽管这些具有代表性生物的名册在不断扩大，但是在这些年我们研究它们后对一些生物所获得的信息不论从宽度上还是广度上都已脱颖而出。在接下来的部分中，我们将分析一些**模式生物**并综述它们对于细胞生物学各方面的贡献，尤其是在许多情况下对人类健康的推进作用。

1.5.1 分子生物学家聚焦于大肠杆菌

在整个细菌界，分子生物学的耀眼光辉主要落在一种细菌即大肠杆菌(*Escherichia coli*，*E. coli*)上(图 1-11)。这种小小的杆状细菌一般生活在人及其他脊椎动物的肠道中，但它很容易在培养瓶内靠简单的营养溶液生长。大肠杆菌能适应环境中多变的化学条件，并且繁殖很快。它的遗传信息包含在一个简单的环状双链 DNA 分子中，大约有 460 万核苷酸对长，并且能制造 4300 多种不同的蛋白质。

从分子角度来看，我们对大肠杆菌的运作比任何其他生物都了解得透彻。我们关于生命基本机制的大部分知识，如 DNA 的复制、遗传指令的编码，都来自对大肠杆菌的研究。后续的研究已经肯定，这些基本的机制在我们自身细胞中几乎以在与大肠杆菌中相同的方式运作。

1.5.2 酿酒酵母是一种简单的真核细胞

我们被真核生物吸引是因为我们自己是真核生物。但是人的细胞复杂而难以研究，倘若我们想要理解真核细胞生物学的基本原理，关注像细菌中的大肠杆菌那样简单而坚强且繁殖快的一个物种常常会更有效些。通常的选择是采用酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)(图 1-32)——用于酿酒和发酵面包的那种微生物——来作为最小的模式真核生物。

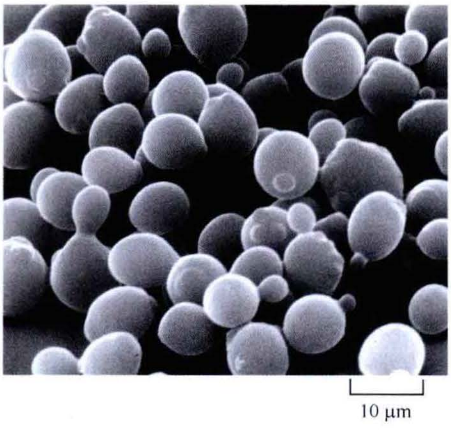


图 1-32 酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)是模式真核细胞。在这张扫描电子显微镜照片中，有些细胞正在以出芽方式分裂。同一种细胞的另一张照片展示于图 1-14 中。(蒙 Ira Herskowitz 和 Eric Schabatach 惠许)

酿酒酵母是一种微小的单细胞真菌，因此根据现代的观点，至少它与动物的关系和它与植物的关系一样近。像其他真菌一样，它有一个坚固的细胞壁，相对地不太活动，有线粒体，但没

有叶绿体。当营养充足时，它几乎像细菌那么快地繁殖自己。因为其细胞核所含有的DNA量仅为大肠杆菌DNA的2.5倍，因此酵母也是遗传分析的好对象。尽管酵母的基因组很小（相对真核生物标准），但它能执行每个真核细胞必须有的基本功能。酵母的遗传学与生物化学研究对理解真核细胞中的许多基本机制极为重要，包括细胞分裂周期一连串的事件，通过这些事件一个细胞的细胞核及一切其他组分被复制，并被分配去生成两个子细胞。事实上，由于在进化过程中高度保守，调控细胞分裂的机制在酵母和人类细胞中可以互换。假如一个酵母突变株缺乏细胞分裂的主要基因，那么把人类中相对应的基因转入酵母中就可以弥补酵母的缺陷并使它正常分裂（见“我们如何得知”）。

1.5.3 从30万种植物中选出拟南芥作为模式植物

在我们周围所见到的大型的多细胞生物，如花、树及动物，似乎变化极大，但是与微小的单细胞生物的巨大群体相比，多细胞生物的进化起源相互接近得多，它们的基本细胞生物学机制也更相似。细菌、古细菌与真核生物在30亿年前相互分开，植物、动物及真菌仅在约15亿年前分开，鱼和哺乳动物仅在约4.5亿年前分开，而各种有花植物相互分开还不到2亿年。

图1-33 普通的爬墙十字花科植物拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）是模式植物。这种小草已成为植物分子生物学家及发育生物学家最喜爱的生物。（蒙Toni Hayden和John Innes Centre惠许）

一切有花植物之间相近的进化关系表明，只要集中对少数几个合适的物种进行仔细分析，我们就能够深入了解有花植物的细胞及分子生物学机制。分子生物学家把眼光从今天地球上的几十万种有花植物中，聚焦到一种小花上，即普通的爬墙十字花科植物拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）。它能在室内大量生长（图1-33），每株植物在8～10个星期内能产生大量的后代。拟南芥的基因组大约有1.1亿核苷酸对，大概是酵母的8倍，而且它的全部序列已测定完成。通过研究拟南芥所携带的遗传信息，我们开始认识更多有花植物的遗传学、分子生物学和进化。在陆地上有花植物几乎在每个生态系统中都占优势。由于我们在拟南芥中发现的基因在农作物种类中也有对应，所以研究这种简单的野草对于我们认识所依赖的农作物或其他植物种类的发育与生理学也是非常有用的。

1.5.4 动物界以果蝇、蠕虫、鼠和人为代表

多细胞动物占已定名的生物物种的大部分，而动物物种的大部分是昆虫。因此一种昆虫——小小的果蝇（*Drosophila melanogaster*）（图1-34）占据着生物学研究的中心位置是非常合理的。事实上，经典遗传学的建立很大程度上都依靠这种昆虫。在80多年前，关于果蝇的研究给了我们基因的确切证据，即遗传的单位是由染色体携带的。在更近的现代，一个系统性的集中研究已经用于阐明果蝇的遗传学，尤其是胚胎发育及幼虫发育中的遗

传学机制。由此我们终于开始详细地了解了活细胞是如何获得它们最惊人的技艺的：单独一个受精卵(或合子)如何发育成一个由大量各种不同类型的细胞按一种可预见的精确方式组织起来的多细胞生物。部分身体奇怪地长在别处，或是器官排列古怪的果蝇突变体提供了线索，用以鉴定建立正确身体结构的基因，包括负责肠、翅、腿、眼以及所有种种都必须长在正确的位置上的基因。这些基因被拷贝并传递至身体的每个细胞中，以确定每个细胞在与其“姐妹”及“表兄妹”间的“社会交往”中如何行动。以这种方式它们控制了由这些细胞建立起来的身体结构。果蝇比其他生物更多地告诉我们如何追踪从编码在DNA中的遗传信息一直到多细胞生物成体结构之间的因果链。此外，果蝇的基因与在人类中相对应的基因有惊人的相似——远较人们从外表上能够预测的更为相似。因此，果蝇可以作为一种研究人类发育与疾病的模式动物。果蝇的基因组——1.85亿对核苷酸组成超过13 000个基因——包含了许多人类基因的对应基因，包括那些已知对人类疾病起关键作用的基因。

图1-34 果蝇(*Drosophila melanogaster*)是发育生物学家和遗传学家最爱的模式动物。通过对这种小昆虫的分子遗传学研究，我们获得了“一把钥匙”去理解所有的动物是如何发育的。(蒙E. B. Lewis惠许)

我们如何得知：生命的共同机制

所有的活生物都是由细胞组成的，而所有的细胞——正如我们在这章中讨论的那样——其内部构造组成都非常相似：它们用DNA来存储它们的遗传信息，最终将指导蛋白质的合成，而蛋白质反过来会执行细胞的化学反应，构造出它们不同的形态并调节它们的行为。但是这些相似性程度到底有多大？是不是一种类型细胞的一部分可以与另一种类型细胞的一部分互换呢？比如一个能在细菌中消化葡萄糖的酶是否在一个酵母细胞或龙虾甚至人的细胞中也能分解同样的糖？拷贝和翻译基因遗传信息的分子机制又是怎样的呢？它们在功能上在一个生物体与另一个生物体中是否等同呢？它们之间的组成分子是否能通用呢？答案可以有许多来源，但是最惊人的是来自对生命过程中最基础的过程即细胞分裂的实验中。

分裂或死亡

所有的细胞都是来源于其他细胞的，产生一个新细胞的唯一途径就是通过分裂一个已经存在的细胞。为了繁殖，一个父本细胞必须执行一个有规律的反应程序，并通过这些反应复制自己的内容物并一分为二。这个重要的过程包括复制和分裂，就是我们大家所知的细胞周期过程。细胞周期是一个复杂并且受到精确调控的过程。当细胞周期所包含的任何蛋白质出现缺陷时，就会导致致命的结果。

很不幸的是，细胞周期突变的致死影响造成了一个问题，让我们很难了解细胞调控机制中的组成部分并发现它们是如何工作的。科学家们依靠突变体发现基因和蛋白质是基于它们所起的功能：假如一个基因对一个已知的过程有必不可少的功能，那么对该基因的一个突变体就将破坏这一个过程。通过分析这些突变生物的功能缺失，我们能查明生物到底需要这个基因的什么功能，再通过分析突变体的DNA序列，我们就能

追查到这个基因的本身。

然而，对于这样的一个分析来说，一个单一的突变细胞是不够的：我们需要一大群携带这些突变的细胞克隆。而这是一个问题。假如这个突变体破坏了一个对生命很重要的过程，比如细胞分裂，那我们如何得到这样一个克隆呢？基因遗传学家已经找到了一个巧妙的解决方法。假如细胞周期基因的突变是条件性的，那么就可以维持该突变并加以研究，也就是假如这个基因产物只在一些特定条件下失去功能。特别是人们经常发现突变体是温度敏感的：这些突变蛋白质能够在生物保持低温的时候正常发挥功能，使得细胞能繁殖；但是当温度升高后，热破坏了蛋白质的结构并摧毁了它们的性能，使得细胞显示出有趣的缺陷（图 1-35）。这种条件性突变的研究在酵母细胞中已经使我们发现了那些调控细胞分裂周期的基因——Cdc 基因家族——并引导我们认识它们是如何工作的。

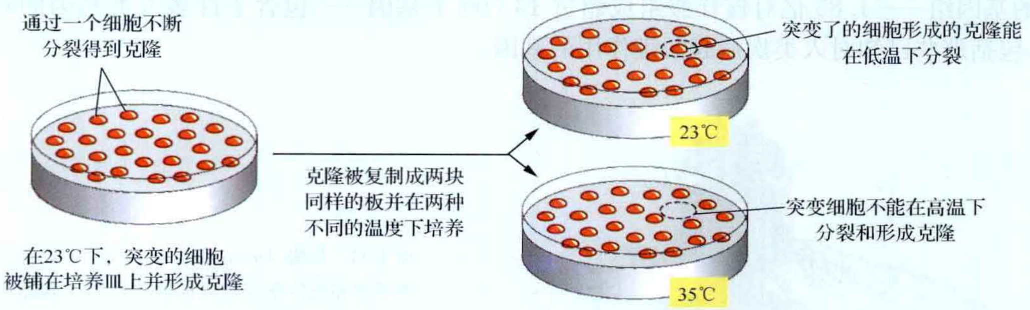


图 1-35　包含一个温度敏感突变的酵母细胞能在实验室中产生。将酵母细胞培养在可造成 DNA 突变的化合物中。然后将它们铺在平板上并让其在较低温度中繁殖。在该温度下，细胞无论是否带有温度敏感的突变，都能正常分裂成一个看得见的克隆。使用一种称为影印铺板的技术，这些克隆被转移到两个相同的培养皿中，其中一块板用低温培养，而另一块板用常温培养，在该温度条件下突变蛋白质不起作用，但是正常的蛋白质可以起作用。细胞中带有对细胞增殖起关键作用的必须基因的温度敏感突变株可以在较低温度下分裂，但不能在常温下分裂。

这表明，相同的温度敏感突变体提供了一个机会，让我们来了解蛋白质在一种生物和另一种生物中的功能是否通用。一个从不同的生物体来的蛋白质能否治愈一个细胞周期缺陷的突变酵母细胞，并让它能够正常繁殖？第一个实验就是使用两种不同种的酵母细胞来做的。

很近的亲属

酵母细胞——一种单细胞的真菌——在细胞分裂研究中非常通用。它们如我们人类一样都属于真核细胞，而且它们很小，很简单，繁殖很迅速，能很方便地对它们进行实验操作。*Saccharomyces cerevisiae*（出芽酵母）是研究最为广泛的酵母，它能依靠形成一个小的芽来分裂，生长得很迅速，直到它与母体细胞分离开（图 1-14，图 1-32）。另一种酵母细胞，*Schizosaccharomyces pombe*（裂殖酵母）也是研究细胞生长和分裂非常热门的品种，因其首先在非洲啤酒中分离而命名。*S. pombe* 是一种杆状酵母，它通过拉长自身两端并在杆状中间形成分隔而分裂成两个细胞。

尽管它们进行细胞分裂的方式不同，但不论出芽酵母还是裂殖酵母都必须拷贝它们的 DNA 并将这些物质分配到子代细胞中去。为了研究调控整个过程的蛋白质在 *S. cerevisiae* 和 *S. pombe* 中功能是否相同，Paul Nurse 和他的研究组成员建立了一个 *S. pombe* 细胞周期突变株，它能被一个来自 *S. cerevisiae* 的基因所拯救。起始点是一个温度敏感的 *S. pombe* 突变株，它不能够在超过 35℃的情况下完成细胞周期。这些突变细胞有一个基因的缺陷，该基因称为 *Cdc2*，这个基因对于激活细胞周期的一些关键事件是必需的。于是研究人员们将一些从 *S. cerevisiae* 中分离的 DNA 片段转入到了这些有缺陷的细胞中去（图 1-36）。

当这些培养物处于 35℃培养条件下时，研究人员发现其中有一些细胞重新获得了繁殖分裂的能力；当平铺在一盘培养基上时，它们能不断地分裂，形成可见的克隆群，每个克隆都包括数以百万计的酵母细胞（图 1-35）。研究人员发现这些被挽救的酵母细胞已经获得了一个 DNA 片段，其中包含来源于 *S. cerevisiae* 中的

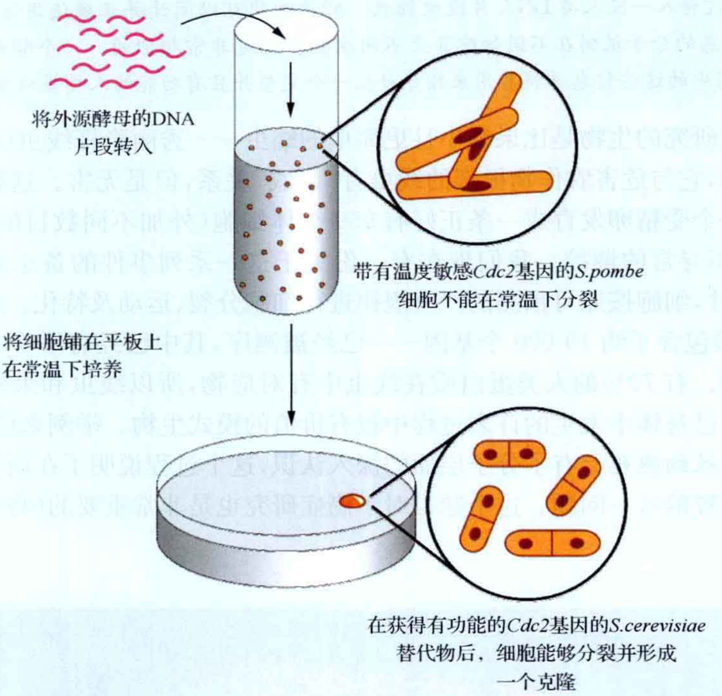


图 1-36　**细胞周期基因的温度敏感 *S. pombe* 突变缺陷株能够被 *S. cerevisiae* 的对应基因拯救。**我们将 DNA 从 *S. cerevisiae* 细胞中提取，并将其打碎成大片段，然后转入温度敏感的 *S. pombe* 突变株中。我们将在第 10 章中具体讨论如何对 DNA 进行操作和转入不同的细胞类型。接受了外源 DNA 的酵母细胞随后被铺在平板上并在常温下培养。其中很少的细胞由于整合了外源基因而被拯救，使它们能在常温下正常分裂，从而在平板中存活和增殖。

相同的基因——这个基因已经因其在出芽酵母中的前期工作而为人熟知(Lee hartwell 和他的研究组成员的工作)。

可能这个结果并不是那么令人意外。一种酵母和另一种酵母能有什么不同吗？更远一些的亲戚又会怎么样呢？为了找出结果，研究人员进行了相同的实验，这次他们使用人类的 DNA 来拯救酵母细胞周期的突变株。结果也是相同的。相同人类基因能够拯救酵母的突变株，使得突变细胞也能正常分裂。

阅读基因

人类和酵母的蛋白质不仅在功能上对等，而且它们几乎在大小和氨基酸组成序列上都是非常地相似。当 Nurse 研究团队检测这个蛋白质中的氨基酸序列后，他们发现人类的 Cdc2 蛋白质与 *S. pombe* 中的 Cdc2 蛋白质有 63%的氨基酸序列相同，与 *S. cerevisiae* 中的 Cdc2 蛋白质有 58%的氨基酸序列相同(图 1-37)。

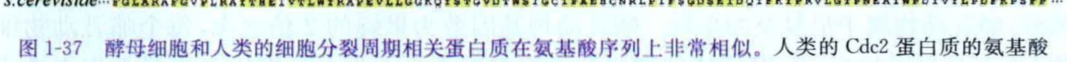


图 1-37　**酵母细胞和人类的细胞分裂周期相关蛋白质在氨基酸序列上非常相似。**人类的 Cdc2 蛋白质的氨基酸序列与 *S. pombe* 和 *S. cerevisiae* 中的蛋白质氨基酸序列是高度相似的。其中用绿色阴影表示相同的部分。每一个氨基酸用一个字母来表示。

这些实验表明不同生物的蛋白质在功能上可以通用。事实上，在真核生物中协调细胞分裂的那些分子在组成上是非常重要的，以至于它们在数十亿年的真核生物进化过程中有几乎不变的高度保守性。

相同的实验突出了另一个更基础的知识点，即这个突变的酵母细胞不仅能够通过被注入人类蛋白质所拯救，而且还能通过转入一段人类 DNA 片段被拯救。酵母细胞可以阅读并正确使用这些信息，这是因为阅读在 DNA 中的信息的分子机制在不同细胞甚至不同生物中都是非常相似的。一个酵母细胞拥有全套的设备来翻译人类基因中的这些信息并将其用来指导产生一个完整并且有功能的人类蛋白质。

另一种广泛研究的生物是比果蝇小且更简单的蠕虫——秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)(图 1-38)，它与危害农作物根部的线虫有“亲戚”关系，但是无害。这种生物像钟表报时一样精确地从一个受精卵发育成一条正好有 959 个体细胞(外加不同数目的卵与精细胞)的成虫，这就是动物不寻常的调控。我们现在有一份关于这一系列事件的备忘录般细微详尽的描述，通过这些事件，细胞按照可预测的严密规律进行细胞分裂、运动及特化。线虫的基因组——9700 万对核苷酸包含了约 19 000 个基因——已经被测序，其中已经有不少突变体都用来测试这些基因的功能。有 70%的人类蛋白质在线虫中有对应物，所以线虫和果蝇一样都被证明是一个研究我们自己身体中发生的许多过程中很有价值的模式生物。举例来说，线虫发育的研究引导我们对**程序性细胞死亡**有了分子层面的深入认识，这个过程说明了在所有的动物中多余的细胞是如何被处置的这一问题。这个题目对于癌症研究也是非常重要的(将在第 18 和第 20 章中讨论)。

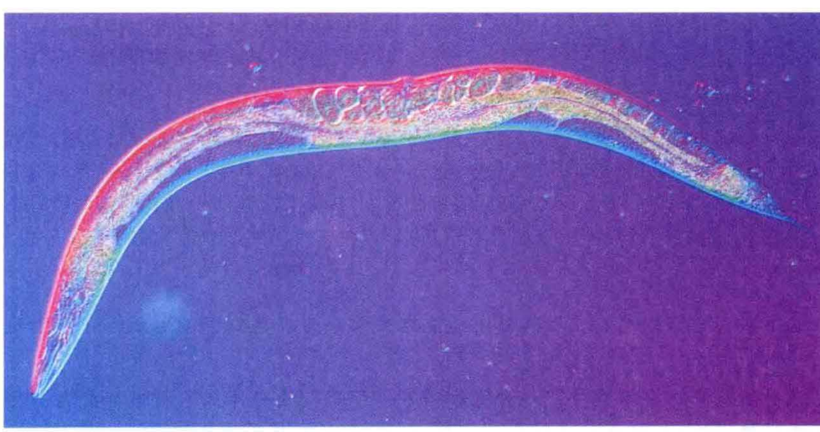


图 1-38 秀丽隐杆线虫是第一个全基因组测序的多细胞生物。这种线虫纲的小蠕虫生活在土壤中。现有研究已经很细致地追踪了它从受精卵发育至成体 959 个体细胞的发育过程，并已知道大量关于它的基本遗传机制。大多数个体是雌雄同体，既产卵，又产精子。照片中的彩色是由于为增强反差而使用的一种特殊的照明方式所致。该虫本身是无色透明的。(蒙 Ian Hope 惠许)

另一种在发育过程中特别是脊椎动物发育中受广泛关注的生物是**斑马鱼**(图 1-39)。因为这种生物在它生命开始的前两周内是透明的，因而提供了一个理想的系统去观察活的动物发育过程中细胞的行为。

另外，哺乳动物属于最复杂的生物。哺乳动物基因数为果蝇的 2 倍之多，每个哺乳动物细胞中的 DNA 是果蝇的 25 倍，其成体的细胞数为果蝇的上百万倍。长期以来小鼠被作为模式生物用于研究哺乳动物的遗传、发育、免疫及细胞生物学机制。新技术赋予小鼠更多的重要性。现在已经能繁殖经过精心设计的任何特定基因的遗传工程突变体，或者载有外源人工构建的基因，从而可以检验哪一个已知基因是必需的以及它是如何发挥功能的。几乎所有的人类基因在

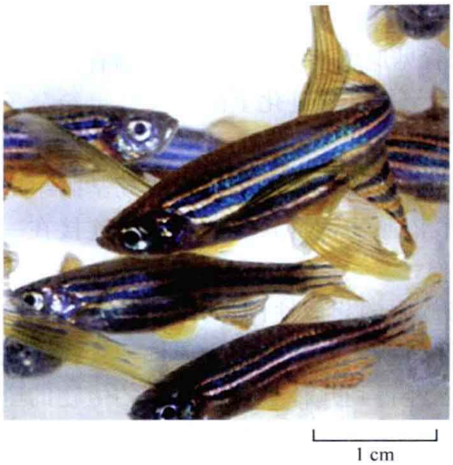


图 1-39 斑马鱼是普遍用于研究脊椎动物发育的模式生物。这些小热带鱼非常便于遗传操作，其胚胎是透明的，因此我们能在活体中观察细胞的运动以及它们随发育进行而发生改变的特征，也能在发育中改变它们的性质。（蒙 Steve Baskauf 惠许）

小鼠中都有对应的基因，它们有相似的 DNA 序列和功能。

但是人类不是小鼠（或鱼或线虫或酵母），所以我们也研究人类自己。医学上的兴趣在很大程度上推动了细胞生物学许多领域的研究，我们的大量知识也来自对人细胞的研究。人细胞的医学数据库很大，虽然任何给定基因的自然突变是稀少的，但有上千个不同基因的突变后果是已知的，不需要求助于遗传工程。这是因为人类在报道和记录他们自己遗传缺陷的同时，也描述了其独特之处。没有其他任何一个物种中的数亿个体进行过如此详细的检查、描述和研究。

尽管如此，我们的未知领域仍然大得令人望而生畏。哺乳动物的身体非常复杂。要想完全理解位于小鼠受精卵中的 DNA 如何使这个受精卵变成一只小鼠或者人的一个卵细胞中的 DNA 怎样指导人的发育，简直让人绝望。但是分子生物学的发现给我们带来了希望：像其他很多时候一样，这种新的乐观基于这样的认识，即某一种哺乳动物的基因在其他很多哺乳动物中都有其对应物，明显地发挥着相似的功能（图 1-40）。我们有一个进化上的共同祖先，而且在本质上我们也似乎共享同一个分子机制。因此，果蝇、蠕虫、鱼、小鼠和人给了我们一把钥匙，来探求动物在普遍意义上是如何形成的以及它们的细胞是怎么运作的。

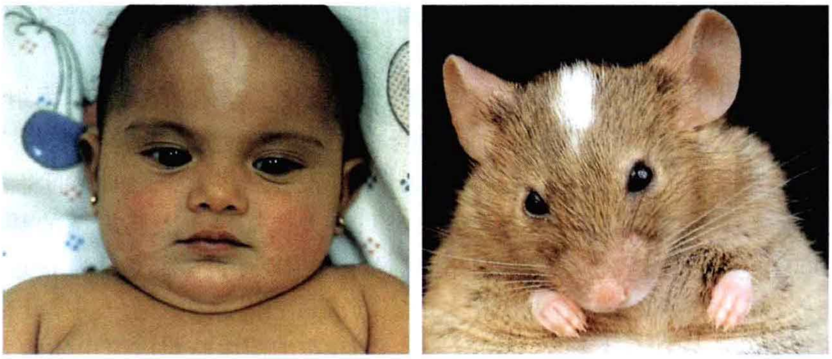


图 1-40 各物种间有相同的分子机制。这里显示婴儿及小鼠的前额部都有相似的白斑，因为其各自的 *Kit* 基因都有缺陷。色素细胞的发育和存活都需要这个基因。（蒙 R. A. Fleischman 惠许，引自 *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 88：10885～10889，1991. National Academy of Sciences.）

1.5.5 比较基因组序列将揭示生命共同的遗传密码

在分子水平，进化上的变化是非常缓慢的。我们能看见地球上很多当代的生物有很多特性已经存在了超过 30 亿年，或相当于宇宙诞生后 1/5 的年纪。这种进化上的保守性也给分子生物学的建立提供了基础。为了给以后的各章设置一个背景，我们将通过更多地介绍一些家族性的联系和不同生物中基本的相似性来结束本章。这个主题过去几年由于分析研究基因组序列而被大幅度地阐明。基因组序列是由四种通用的核苷酸依照物种特异的方法紧密连接在一起组成的 DNA（更多的内容将在第 9 章中讨论）。

DNA 序列使得我们可以很容易地检测到基因在家族中的相似性：假如两个从不同生物中得到的基因有很接近和相似的 DNA 序列，那么这就强烈地提示这两个基因是同一个祖先基因的后裔。我们称这种基因（或基因产物）为**同源**。我们已经得到几种具有代表性的生物的全基因组序列，包括生物的三大部分——古细菌、真细菌和真核生物——因此我们可以系统性地检测。通过这个方法，我们能开始整理出所有生物中的共同遗传基因并能从中追踪生命的起源，直到找到最早的那个原始祖先细胞。在这个宏伟事业中有不少困难：一些祖先基因被丢弃了，另一些祖先基因被改变了许多，以至于不容易被识别为有亲属关系。但是在排除这些不确定性后，从生命树中最广阔的分离和分枝中比较基因组序列给了我们一个感觉：哪些基因是组成活细胞所不可或缺的。

通过比较五种细菌、一种古细菌和一种真核细胞（酵母）的全基因组，揭示了一套核心的 239 个蛋白质编码基因家族，它们在所有三个部分都有代表。这些基因大多数都有自己的功能；那些基因数量最多的共享基因家族，承担了氨基酸代谢和转运以及核糖体的产生和功能的任务。因此，在现代环境中细胞存活所需的最小数目基因很有可能不足 200～300 个。有记录的最精简的基因组是一种叫作 *Carsonella ruddii* 的细菌，该细菌生活在植物虱子的特化的细胞中，有 182 个基因。然而，这种生物依赖于昆虫宿主的基因来执行许多它本身必需的功能。

大多数生物具备的基因数明显地高于被估计的最小量即几百个基因。甚至节俭的细胞如原核生物，只携带了一点点多余的遗传物质，其基因组通常也至少含有一百万个核苷酸对并编码 1000～8000 个基因。正由于这些数千个基因，细胞才能够在地球上最恶劣的环境中兴旺繁衍。

典型细菌的压缩基因组被典型真核生物的基因组矮化了。例如，人类基因组包含的 DNA 数量大约是大肠杆菌基因组的 700 多倍，而一种蕨类的基因组包含的 DNA 数量大约是一个人的 100 多倍（图 1-41）。然而，在基因数量上，这种区别并没有那么大。假如我们将表达一个蛋白质的 DNA 长度作为一个基因的话，那么我们人类只有大概 7 倍于大肠杆菌的基因数。此外，在我们的 24 000 个蛋白质编码基因和它们相应的蛋白质中，有很多都是非常接近的家族群，就像血红蛋白家族，在人类中该家族有九个相关的家族成员。因此在一个人中，具有本质上不同功能的蛋白质数量并不比在一个细菌中的数量多多少，在细菌中有对应蛋白质的人类基因占总体上很大的一个部分。

那些剩下的人类 DNA——绝大部分不能够编码为蛋白质或功能性的 RNA 分子，是一个序列的混合体，有的能帮助调控基因的表达，有的看上去是可有可无的垃圾，像一大堆旧报纸那样保留着。那是因为假如没有外界压力要求保存的档案量很小的话，那么保留已有的资料要比筛选出有价值的信息并丢弃其余的资料要来得方便得多。巨大数量的调控 DNA 保证了巨大

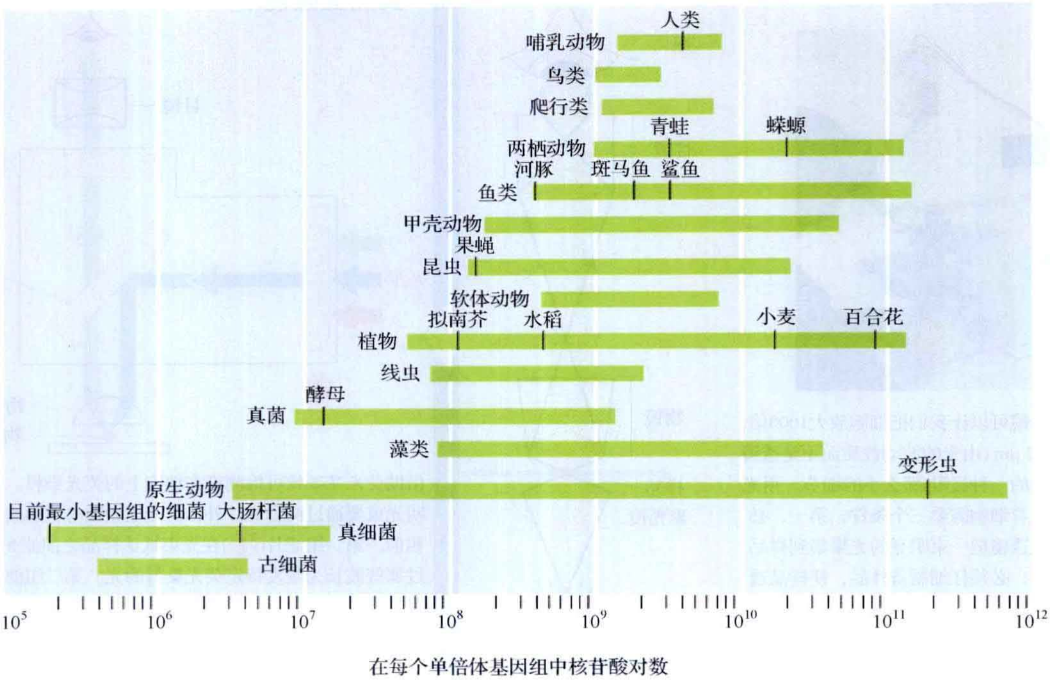


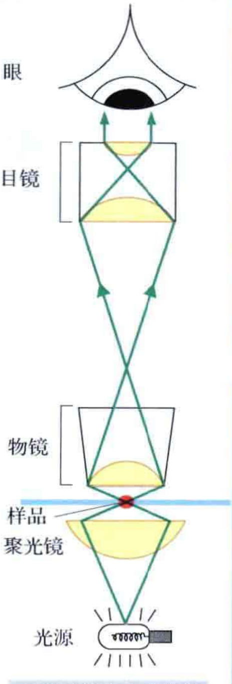
图 1-41 不同生物的基因组大小有巨大的差别。基因组大小由单倍体 DNA 中核苷酸对的多少来衡量，也就是基因组的单个拷贝（有性生殖生物如人类的细胞通常是二倍体：它们包含基因组的两个拷贝，一个从母本中遗传，另一个从父本中遗传）。非常接近的生物在它们基因组中的 DNA 量可以差别很大（就如绿色横杆的长度那样），即使它们含有相似数量的具有独特功能的基因。（摘选自 T. R. Gregory，2008，Animal Genome Size Database：www.genomesize.com）

的复杂性，让一个真核多细胞生物的不同基因在不同的时间地点精确地做出不同的反应。但是组成我们细胞基本部件的清单——由指定的 DNA 所制造的那套蛋白质——并不比制造一辆汽车所需基本部件的清单更长，而且很多部件不但对所有动物，甚至对于整个生物世界都是通用的。

只靠一段 DNA 就能够规划活细胞和复杂生物的生长、发育和繁殖，这的确是一个令人惊奇的现象。在本书的余下的内容中，我们将试图解释细胞是如何工作的——通过检测它们的组件部分和观察这些组件是如何组合在一起工作的，并且通过研究每个细胞的基因组是如何指导这些组件的生产从而帮助细胞繁殖后代和运行每个生物体的。

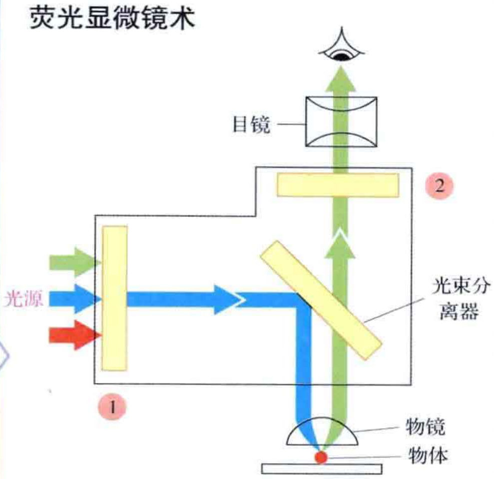
光学显微镜

光学显微镜可以让我们把细胞放大1000倍，能分辨0.2 μm (由光的波动性质而不是透镜性质决定的一种极限)那么小的细节。用光学显微镜看细胞需要三个条件，第一，必须用聚光透镜把一束明亮的光聚集到样品上；第二，必须仔细制备样品，使样品透光；第三，必须设置一套合适的透镜组 (物镜与目镜)，使样品成像于眼中。



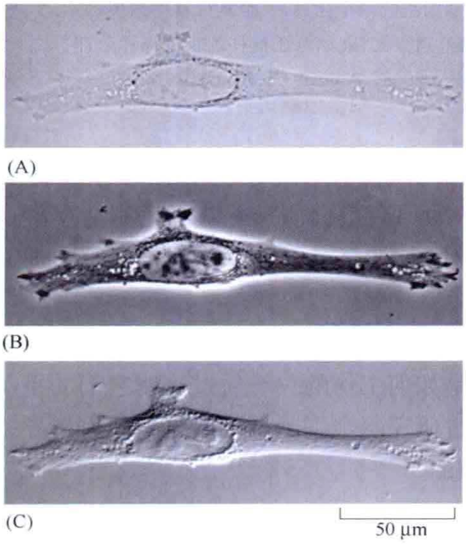
光学显微镜中的光路

荧光显微镜术



借助荧光显微镜可检测染在细胞上的荧光染料。除了照明光束要通过两套滤片外，荧光显微镜与普通的显微镜相似。第一组滤片(1)在光束抵达样品之前滤光，只透过那些波长为激发特定荧光染料的光。第二组滤片(2)阻断激发光，只让波长为染料所发射的荧光通过。在暗背景衬托之下，染色物体色彩亮丽，容易观察。

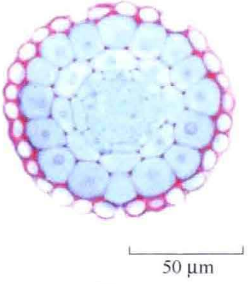
观察活细胞



未经染色的同一个体外培养的动物细胞 (成纤维细胞)的三个图像。(A) 直接透镜观察(明视野)；(B) 相差透镜观察；(C) 微分干涉相差透镜观察。后两个系统显示差别的方法是利用光在细胞中折射率不同的区域传播时的光程差。只需简单地转换光学元件，就很容易在同一台显微镜上获取这三种图像。

固定样品

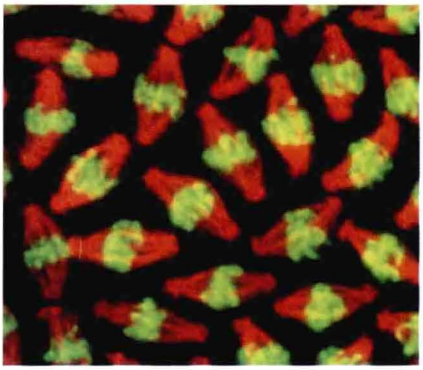
大多数组织既不够小又不够透明，难以在显微镜中直接观察。因此，典型的做法是先用化学方法固定组织，再切成很薄的薄片，或称切片，把它固定在显微镜用的玻璃载玻片上，并进一步染色以显露出细胞的各种组分。这里可以看到一种植物根尖的一张染色切片(D)。(蒙Catherine Kidner惠许)



(D)

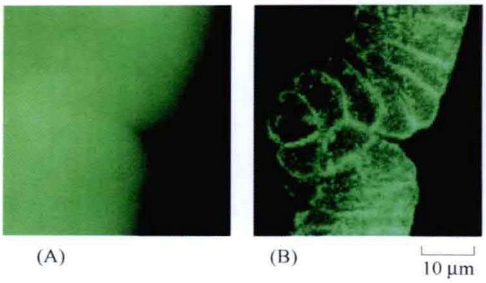
荧光探针

荧光染料吸收某一波长的光，再发射另一种波长更长的光。这类染料有些与细胞内的特定分子专一性地结合，从而在做荧光显微镜观察时能显示出这些分子所在的部位，如这里所显示的DNA染色 (绿色)。另一些染料可以偶联到抗体分子上，然后这些荧光抗体分子可以作为高度专一性且广谱适用的染色剂与特定的大分子选择性地结合，让我们看到这些大分子在细胞中的分布。图中显示有丝分裂纺锤体的一种微管蛋白被一种荧光抗体染上红色。(蒙William Sullivan惠许)

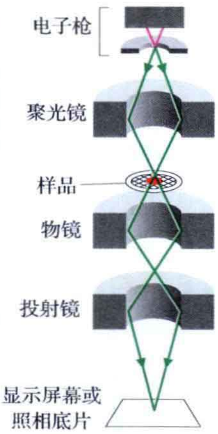


共聚焦显微镜术

共聚焦显微镜是一种用激光束扫描标本从而成像的荧光显微镜。激光聚焦在样品特定深度的一个点上，针孔样的光圈仪让该点上发射的荧光被采集为图像。这个激光扫描整个样品就能得到一个所聚焦的平面上的清晰图像，即一个光切面。在不同深度上的一系列光切面图像使得我们可以建立一个完整的三维图像。这里显示我们用识别肌动蛋白的荧光探针（一种丝状蛋白质）染色的一个完整昆虫胚胎。(A)由于有荧光素的结构高于或低于聚焦平面，导致常规荧光显微镜只能给我们一个模糊的图像。(B)共聚焦显微镜提供一个光切面使我们能够清晰地观察到单个的细胞。(蒙Richard Warn和PeterShaw惠许)



透射电子显微镜术

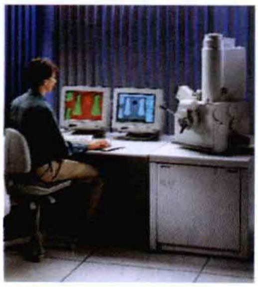


(蒙Daniel S. Friend惠许)

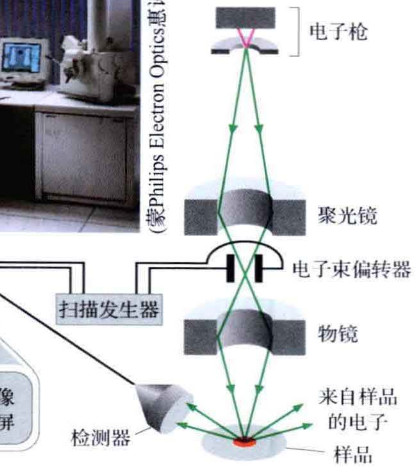
下方的电子显微镜照片显示一片精巢组织中单个细胞的小区域。组织经过化学固定，包埋在塑料中，切成很薄的切片，再用铀盐及铅盐染色，然后将切片置于电子显微镜的真空室内。

透射电子显微镜(TEM)的原理与光学显微镜大致相似。但是它用电子束代替光束，用电磁线圈聚焦电子束代替玻璃的透镜。置于真空室中的样品必须很薄。通常用电子致密的重金属染料来造成反差。这类染料局部吸收或散射电子，因而当电子束通过样品时，将其从电子中移出，从而造成反差。TEM的有效放大率达到了百万倍，在生物样品中的分辨率可达2 nm。

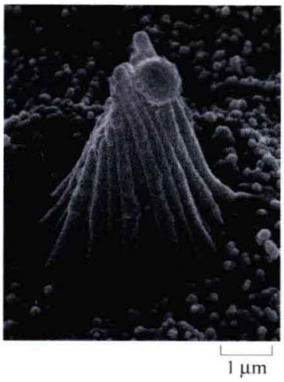
扫描电子显微镜术



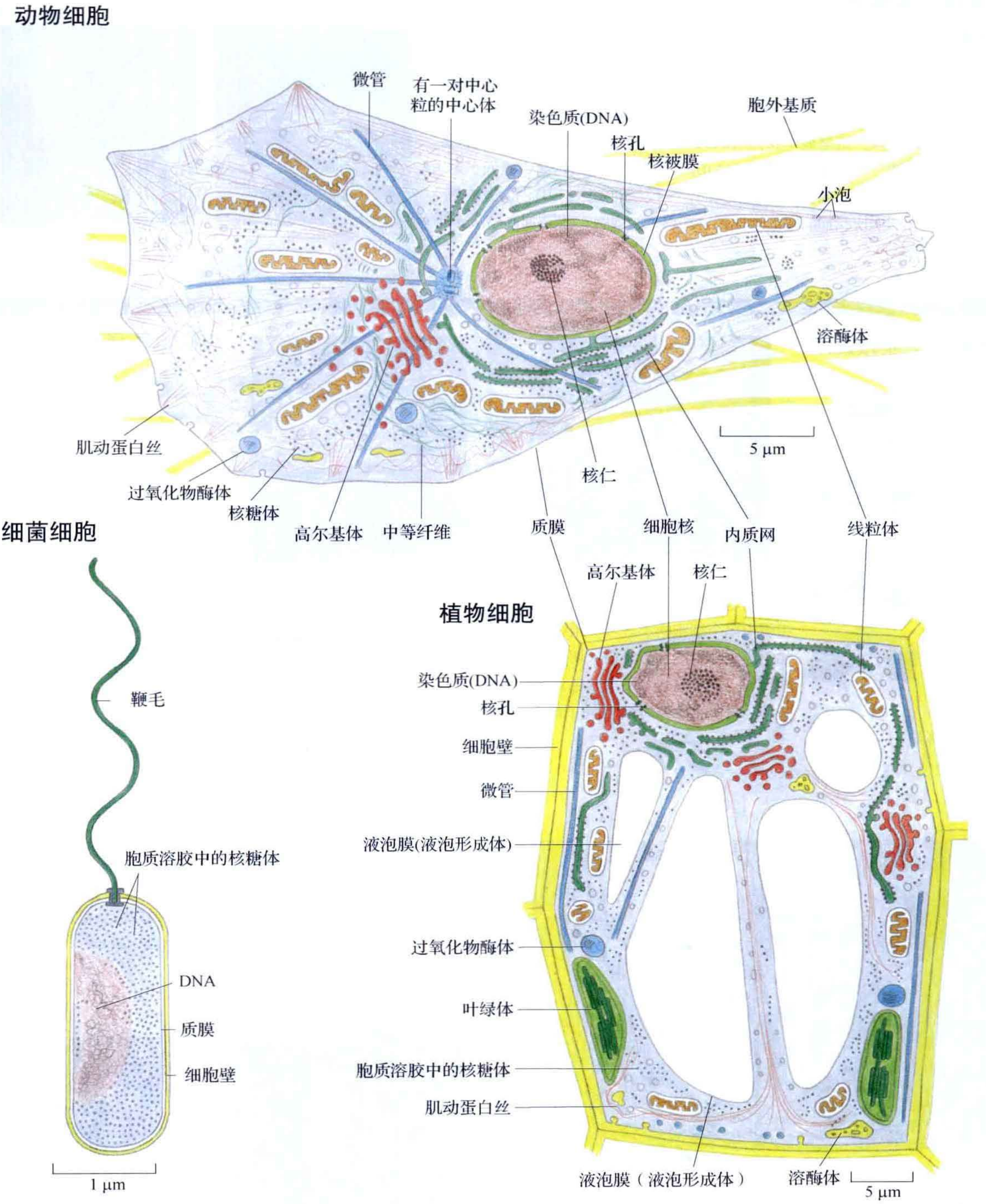
(蒙Philips Electron Optics惠许)



在扫描电子显微镜(SEM)中，样品被覆上一层很薄的重金属膜，电子束经电磁线圈聚焦在样品上，并对样品进行扫描。电子显微镜中的电磁线圈起透镜的作用。电子束轰击样品表面上一个一个连续的点，检测器测量从每一点发射或散射出来的电子数量，并用其控制屏幕图像上每一点的强度。这种显微镜有很大的焦深，能为三维物体形成鲜明的图像，其分辨率为3~20 nm，视仪器而定。



内耳毛细胞伸出的实心纤毛扫描电子显微镜图像(左图)。作为比较，用光学显微镜在其分辨率极限的条件下显示同一种结构(上图)。(蒙Richard Jacobs和James Hudspeth惠许)



这里画了三种细胞，比模式图1-24更逼真一些，用同样的颜色标出细胞的主要组分。图中的动物细胞是以成纤维细胞为基础画的。成纤维细胞是一种穿行于结缔组织中的细胞，积淀胞外基质。一个活的成纤维细胞的显微照片列于图1-7A。图中的植物细胞是一个典型的幼嫩叶细胞，图中的细菌是杆状的，有单独一条鞭毛供运动之用。

基本概念

- 细胞是生命的基本单位。今天的所有细胞被认为是从生活于30多亿年前的一个祖先细胞进化而来的。
- 所有的细胞，即所有的生物体都能生长，将能量从一种形式转化为另一种形式，感知并回应其外界环境和繁殖自身。
- 所有的细胞都被一层质膜所包围，该膜将细胞的内部和外界环境隔离开。
- 一切细胞含有作为遗传信息存储器的DNA，并用它指导RNA和蛋白质的合成。
- 多细胞生物中的细胞尽管全都含有相同的DNA，但仍可以很不一样。它们依据各自的发育背景和从环境中汇总的信号启用全套遗传信息中的不同部分。
- 动物及植物组织的细胞直径通常为5～20 μm。通过光学显微镜可看到动植物细胞，也可看到细胞的一些内部组分或细胞器。
- 用电子显微镜可以看到更小的细胞器甚至个别分子，但是样品必须经过精心制备，而且无法观察活的细胞。
- 最简单的当代活细胞是原核生物：它们虽然含有DNA，但是没有细胞核及其他细胞器。它们可能最像祖先细胞。
- 各种不同的细菌有多种多样的化学能力，生活在广阔得令人惊奇的栖息地。两个基本的进化上的亚门已被判明：真细菌与古细菌。
- 真核细胞有细胞核和其他原核细胞中没有的细胞器。它们可能经过一系列阶段进化而来。其中重要的一步可能是获得线粒体。线粒体被认为是起源于被真核细胞摄入的细菌。
- 大部分植物及动物细胞中最突出的结构是细胞核。细胞核装着这个生物的遗传信息，储存在DNA分子的结构中。细胞核之外的其余细胞内含物构成细胞质。
- 细胞质包括了除细胞核外的所有的细胞组成成分。细胞质中含有各种各样的膜被细胞器，后者各具特殊的化学功能。线粒体对食物分子进行氧化作用，植物细胞的叶绿体执行光合作用。内质网、高尔基体和溶酶体使细胞能够合成复杂的分子，运输到细胞外或插入细胞膜中，它们也能输入和消化一些大分子。
- 细胞质中除膜被细胞器外的是胞质溶胶，是高浓度的大大小小分子的混合物。这些分子进行许多基本的生物化学过程。
- 细胞骨架是一类蛋白质丝体系，分布在整个细胞质中。细胞骨架控制细胞的形状与运动，并且将细胞器及分子从一处转运至另一处。
- 自由生活的单细胞真核微生物包括一些已知的最复杂的真核细胞，它们能游动、交配、捕猎并吞食。
- 由各种类型的真核细胞所组成的动物、植物或是真菌，都由一个简单的受精卵细胞分裂而成；协同形成大型的多细胞生物如我们自身的细胞数目可达数以万亿计。
- 生物学家已选定少数几种生物作为重点加以认真研究，其中包括大肠杆菌、酿酒酵母、线虫纲的一种蠕虫、一种蝇、一种小植物、一种小鼠以及人类自己。
- 尽管针对组成一个活细胞所需要的最少基因少于400个，但绝大多数的细胞包含非常多的不同基因。然而，即便像人类这样复杂的生物，也只有大约24 000个编码蛋白质的基因——2倍于果蝇和7倍于大肠杆菌。

关键词

DNA	核糖体	染色体	细胞核	叶绿体
RNA	基因组	同源	细胞器	原核生物
胞质溶胶	进化	微米	细胞质	原生动物
蛋白质	模式生物	细胞	显微镜	真核生物
古细菌	纳米	细胞骨架	线粒体	真细菌

问题

问题 1-1 "生命"可以很容易被识别，但它很难被定义。字典上生命的定义是"生命是区分活着的物体或有机体与死亡物体和无机物的状态或质量。生命的特性主要是代谢、生长和繁殖能力以及对刺激的反应"。生物学的教科书上通常这样解释，例如，参考目前流行的教材，活的生物是：

(1) 对比于自然界无生命物体具有高度的组织性；

(2) 显示出动态平衡，维持一个相对稳定的内部环境；

(3) 能自我繁殖；

(4) 从简单的起点开始生长和发育；

(5) 能从环境中获得能量和物质，并能转化它们；

(6) 对刺激产生反应；

(7) 显示对环境的适应力。

请根据以上标准来评估一下你自己、一台吸尘器和一个马铃薯。

问题 1-2 突变是 DNA 中发生的错误，它改变上代的遗传计划。想象一家制鞋厂，它能否通过在复制鞋的设计时出错（非故意的改变）而使生产出来的鞋子得到改进。试解释你的答案。

问题 1-3 你有一个野心勃勃的研究计划：在一个试管中创造生命。你加热一个富含酵母提取物和氨基酸的长颈瓶，里面还有一些已知生命必需的无机盐。你密封了这个长颈瓶并让它冷却下来。在几个月后，里面的液体仍然如开始那样清晰，并没有任何生命的迹象。一个朋友建议说排除空气是一个错误，因为绝大多数我们所认识的生命都需要氧气。你重复了该实验，但这次你让这个长颈瓶对着空气敞开瓶口。你非常高兴在一段日子后，这里的液体开始变得浑浊，在显微镜下你发现了既美丽又小巧的细胞，它们还在不断地生长和分裂。这个实验能否证明你已经创造了一个全新的生命形式吗？你如何重新设计你的实验让空气进入该长颈瓶，但排除那些认为污染是上述结果的解释的可能性呢（作为一个现成的答案，请看一下 Louis Pasteur 的实验）？

问题 1-4 细菌质量为 10^{-12} g，每 20 min 能分裂一次。若一个细菌以这个速率进行分裂，试问欲使细菌质量等于地球质量（6×10^{24} kg）需要多长时间？而细菌大约起源于 3.5×10^{9} 年前且一直在分裂，试将此事实与你的结果作一比较，解释这个表面上似乎矛盾的说法（一个培养物在时间 t 时的细胞个数 N 以下式表示：$N = N_0 \times 2^{t/G}$，其中 N_0 是当时间为 0 时的细胞个数，G 是群体倍增时间）。

问题 1-5 根据图 1-19，为什么线粒体既有一层外膜又有一层内膜？从进化观点来看，两种线粒体膜中的哪一个是从古代真核细胞的细胞膜衍生而来？在图 1-18A 的线粒体电子显微镜照片中，请辨认出含线粒体 DNA 的部位，即对应于被图 1-19 中祖先真核细胞所内化的那个细菌的胞质溶胶部位。

问题 1-6 真核细胞进化形成精巧的内膜系统，从而使它们能从外界输入物质，如图 1-25 所示。为什么这有利于真核细胞？试给出一个理由。

问题 1-7 讨论并比较电子显微镜与光学显微镜的优点及缺点。对下列目标你用什么方法观察为最佳：(a)一个活的皮肤细胞，(b)一个酵母线粒体，(c)一个细菌及(d)一条微管？

问题 1-8 你的邻居捐赠了 100 美元用于支持癌症的研究，然而却听说被用在了研究酿酒酵母上，她惊呆了。你怎样使她感到心情舒畅？

问题 1-9 现在你一定熟悉下列细胞组分。简要地说明它们是什么以及它们为细胞发挥什么样的功能。

A. 胞质溶胶　　E. 叶绿体　　I. 过氧化物酶体
B. 细胞质　　F. 溶酶体　　J. 质膜
C. 线粒体　　G. 染色体　　K. 内质网
D. 细胞核　　H. 高尔基体　　L. 细胞骨架

问题 1-10　下列陈述哪一个是正确的？试说明之。

A. 一个细胞的遗传信息是经蛋白质传递的。

B. 细菌的 DNA 出现在胞质溶胶中。

C. 植物由原核细胞组成。

D. 同一个生物的全部细胞有相同数量的染色体(卵细胞与精细胞除外)。

E. 胞质溶胶含有膜被细胞器,如溶酶体。

F. 细胞核及线粒体被双层膜包围着。

G. 原生动物是复杂的生物,它有一套特化的细胞来形成组织,如鞭毛、口部、刺射器以及足状附器。

H. 溶酶体及过氧化物酶体是分解废物的场所。

问题 1-11　为得到一个关于细胞大小的印象(并练习使用公制单位),考虑下列内容:人脑约重 1 kg,并约含 10^{12} 个细胞。试计算一个脑细胞的平均大小(虽然我们知道它们的大小变化很大),假定每个细胞完全充满着水(1 cm^3 的水质量为 1 g)。如果脑细胞是简单的立方体,那么这个平均大小的脑细胞边长为多少？如果这些细胞铺成一薄薄的单细胞层,那么这一薄层可以覆盖本书多少页？

问题 1-12　辨认图 Q1-12 电子显微镜照片中用字母标出的各种细胞器,判断此图中标尺的长度。

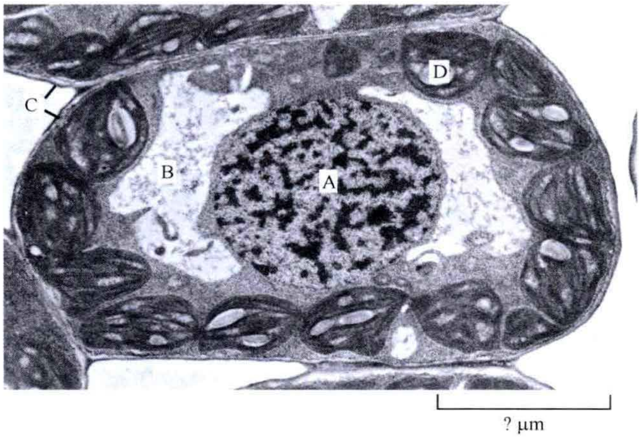


图 Q1-12

问题 1-13　细胞骨架由三大类纤维组成,它们是什么？它们之间的功能有什么区别？哪种细胞骨架纤维在肌肉细胞中或在组成皮肤外层的上皮细胞中最为丰富？请解释你的答案。

问题 1-14　在进化中自然选择是这样一种强大的力量,细胞即使有一点微弱的生长优势,就会迅速超过它们的竞争者。为说明这个过程,请考察一个细胞培养物,其中含有 100 万个细菌细胞且每 20 min 增加 1 倍。在此培养物中有一个细胞发生了突变,且它能分裂得更快一些,其世代时间仅为 15 min。假定有无限的养料供应且无细胞死亡,那么经过多长时间在这个培养物中这种突变细胞的后代会占优势(你在进行计算之前,先做一个猜测:这大概会需要一天,一个星期,一个月或一年)？此时培养物中两种细胞各有多少(在时间为 t,细胞的个数为 N 时由下列方程表示:$N = N_0 \times 2^{t/G}$,N_0 是当时间为 0 时的细胞个数,G 为世代时间)？

问题 1-15　当细菌在逆境(在有毒物如某种抗生素存在)中生长时,大多数细胞生长增殖缓慢。但是往往几天以后在这种毒物仍然存在的条件下,细菌培养物的生长速率会恢复到以前没有毒物存在的速率。试说明为什么会出现这种情形。

问题 1-16　将问题 1-14 中描述的指数生长原理应用于多细胞生物中的细胞,如人。人的身体大约有 10^{13} 个细胞。假设一个细胞发生突变使它能以一种不受控制的状态进行分裂(也就是说它变为一个癌细胞)。有些

癌细胞能以 24 h 的世代时间生长。如果癌细胞一个都不死亡，体内 10^{13} 个细胞全都变成癌细胞之前需用多长时间（用方程 $N = N_0 \times 2^{t/G}$，t 是时间，G 是每一代的时间长度。提示：$10^{13} \approx 2^{43}$）？

问题 1-17 讨论下列论点："一个活细胞的结构与功能是由物理学及化学定律所支配的"。

问题 1-18 以多细胞的形式存在有什么优点，假如有的话？

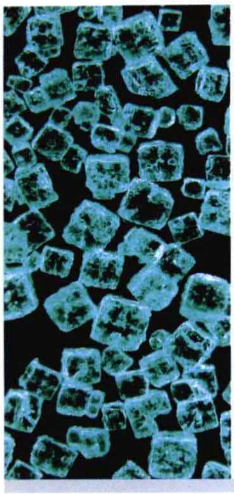
问题 1-19 按比例画出两种球形细胞的轮廓，一种是直径为 1 μm 的一个细菌，另一种是直径为 15 μm 的一个动物细胞。试计算每个细胞的表面积、体积以及表面积/体积。若你把细胞的内膜也包括进表面积的计算中（假设内膜的面积为质膜的 15 倍），这个比例会怎样变化？球的体积由 $4\pi R^3/3$ 给出，球面积为 $4\pi R^2$，其中 R 是球的半径。讨论下述假设："内膜使较大的细胞得以进化"。

问题 1-20 一切活细胞都从一个共同的祖先细胞进化而来，证据是什么？想象地球上生命进化的很早期，你可否假设那个原始的祖先细胞是所形成的第一个仅有的细胞？

问题 1-21 在图 1-26 中，蛋白质是蓝色，核苷酸是橘黄色或红色，磷脂是黄色，多糖是绿色。请在这张图中指出这个真核细胞中主要的细胞器和其他重要的细胞结构。

问题 1-22 在显微镜下观察一些水池中的水滴，你看到了一些陌生的棒状细胞，它们大约有 200 μm 长。已知有一些特别的细菌可以和这个一样大或者更大一些，你对这个细胞是一个细菌还是一个真核细胞感到困惑。你将如何决定呢？假如它不是一个真核细胞，你又将如何发现它是一个古细菌还是一个真细菌呢？

（徐　沁　译）



2 细胞的化学成分

2.1 化学键
2.2 细胞内的分子
2.3 细胞内的大分子

生物体仅仅是一个化学系统，这个观点起初看起来让人难以接受。它们惊人的形态多样性、有目的的行为以及生长和繁殖能力都将它们明显区别于化学中经常描述的固体、液体和气体。事实上，直到19世纪，人们还普遍认为动物具有一种生命的力——一种"活力"(animus)，那是造成生物独特性质的主要原因。

我们现在知道，生物体内并没有什么东西违背化学和物理规律。然而，生命的化学确实是一门特殊的化学。第一，它完全建立在碳化合物的基础上，因此对它的研究被称为有机化学。第二，它几乎完全依赖于地球上较窄温度范围内的水溶液中所发生的化学反应。第三，它极其复杂，即使最简单的细胞也远比其他任何已知的化学体系复杂。第四，它被众多的聚合物分子所支配——这些分子是由一些化学**亚基**首尾连接而成——它们独特的性质使细胞和生物能够进行生长繁殖，以及去实现一切生命体所特有的其他活动。第五，它是被严格调控的：细胞内具有一系列的调控机制，以确保相应的化学反应发生在适当的时间和地点。

在某种意义上，化学指导生物。因此，在这一章节中，我们将概述活细胞中的化学组成。我们会了解组成细胞的化学分子，以及它们的结构、形态和化学性质。这些分子决定了细胞的大小、结构和功能。通过了解这些分子如何相互作用，我们将开始明白细胞如何利用化学和物理规律得以存活。

2.1 化学键

物质由元素组合而成。如同碳氢那样，这些物质并不能被化学方法分解或转化成为另一种物质。保留着元素独特化学性质的最小单位是原子。除了元素本身之外，任何物质的性质(包括构成活细胞的物质)都取决于其拥有什么类型的原子以及原子相连形成分子的方式。因此，理解生命体如何由无生命的物质所构成的关键在于要知道分子中将原子维系在一起的那些化学键是如何形成的。

2.1.1 细胞由少数几种原子组成

原子的中心是带有正电荷的原子核，在原子核周围是带负电荷的电子云，**电子**受原子核的

静电力吸引而被束缚在轨道上(图 2-1)。原子核由带正电荷的质子和不带电的中子组成。原子核中的质子数目就是*原子序数*。一个氢原子仅有一个质子,所以氢的原子序数为 1,氢也是最轻的元素。一个碳原子的原子核内含有 6 个质子,它的原子序数为 6(图 2-2)。每个质子所带的正电荷恰好等于一个电子所带的负电荷的电量。因为原子总体上是电中性的,围绕原子核的电子所带的负电荷数等于原子核中质子所带的正电荷数,因此一个原子中的电子数也就是它的原子序数。某一特定元素的原子具有相同的原子序数,下面我们将要了解到原子序数决定着元素的化学性质。

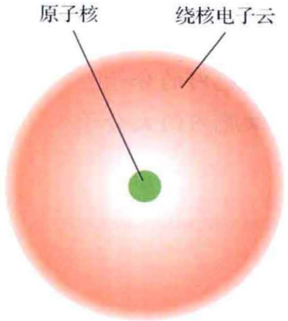


图 2-1 一个原子由原子核和核外电子云组成。致密的、带正电荷的原子核占到原子质量的绝大部分。带负电荷的电子比原子核轻很多,在量子力学定律的制约下,围绕原子核做高速运动。由于无法预测电子在某个特定时间下的准确位置,电子用连续的云层来表示。电子云阴影的灰度显示电子在该处出现的概率。电子云的直径为 0.1(氢)~0.4 nm(原子序数大的原子)。原子核很小,以碳原子为例,核直径约为 2×10^{-5} nm。

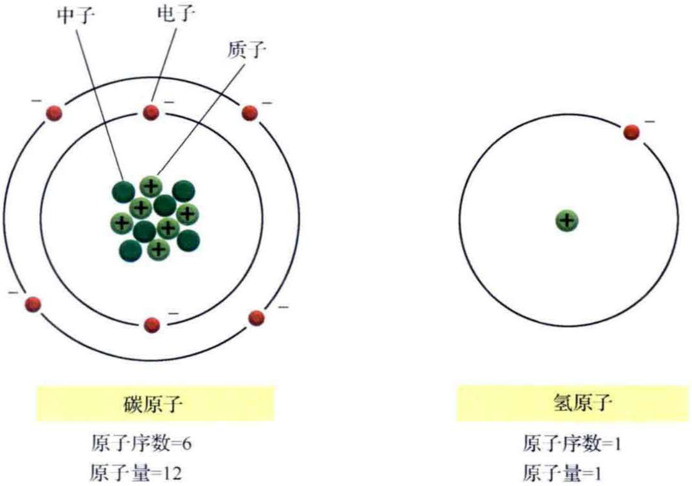


图 2-2 原子的质子数目决定它的原子序数。图例中显示的是一个碳原子和氢原子的模式图。除氢原子外,每个原子的原子核都由带正电荷的质子和不带电荷的中子组成。一个原子的电子数等于它的质子数,所以整个原子不带任何净电荷。与图 2-1 相比,这里我们把电子画成了一个个粒子。同心黑色圆环代表电子轨道。对于一个完整的原子而言,中子、质子和电子显得很微小;它们在图中的大小被夸大了。

中子是不带电的亚原子粒子,其质量与质子的质量基本相同。中子能维持原子核结构的稳定性——如果中子太多或太少,原子核会通过放射性衰变而裂解——但中子并不改变原子的化学性质。因此,一种元素存在着几种物理上各不相同而化学性质上一样的亚型,被称为*同位素*。每种元素的同位素的中子数不尽相同,而质子数却一样。自然界中几乎所有的元素都存在多个同位素,而其中很多同位素都是不稳定的。例如,地球上大部分碳元素以稳定的碳-12 的形式存在,其原子核有 6 个质子和 6 个中子;但也有少量碳元素以不稳定的同位素形式存在,例如,具有放射性的碳-14,它含有 6 个质子和 8 个中子。碳-14 以一种缓慢而稳定的速率进行放射性衰变,这是考古学上用碳-14 作为测定有机物年代的理论基础。

一个原子的**相对原子质量**或一个分子的**相对分子质量**指的是它的质量与一个氢原子质量的比值,它基本上等于原子或分子中含有的质子数与中子数之和,这是因为电子很轻,对原子的总质量几乎没有贡献。所以,绝大多数碳元素的相对原子质量为 12,用符号 ^{12}C 表示;而刚才提到的碳同位素的相对原子质量为 14,记为 ^{14}C。

原子如此之小，以至难以想象它的大小。一个碳原子的直径约为 0.2 nm，所以在 1 mm 长的直线上可以排列 500 万个碳原子。一个质子或中子的质量约为 $1/(6\times10^{23})$ g，所以 1 g 氢元素约有 6×10^{23} 个原子。这个数字（6×10^{23} 被称为阿伏伽德罗常量）是一个关键性的常数，用以描述日常度量（everyday quantity）与用分子或原子个数为单位度量的数量关系。如果一种物质的分子量为 M，那么 M g 该物质就含有 6×10^{23} 个分子，同时我们把这么多数量的这种物质称为 1 摩尔（mol）（图 2-3）。有关摩尔的概念已在化学上广泛使用，用于表示参与某个化学反应的分子数目。

1 mol 代表 X g 的某种物质，X 是该物质的相对分子质量(分子量)。每摩尔物质约含有 6.02×10^{23} 个分子。

1 mol碳的质量为12 g
1 mol葡萄糖的质量为180 g
1 mol氯化钠的质量为58 g

摩尔溶液指的是1 L溶液中含有1 mol的某种物质。例如，葡萄糖的1 mol溶液（用1 mol/L表示）的浓度为180 g/L，而1 mmol/L葡萄糖溶液的浓度为180 mg/L。

图 2-3　什么是摩尔？摩尔与摩尔溶液举例。

自然存在的元素有 92 种，每种元素因其质子和电子数不同而与其他元素区分开来。而生物体仅由其中的一小部分元素组成，其中碳（C）、氢（H）、氮（N）和氧（O）四种元素占到生物体质量的 96.5%。这个组成明显不同于无生命的无机环境（图 2-4），也证明生命是一种与众不同的化学类型。

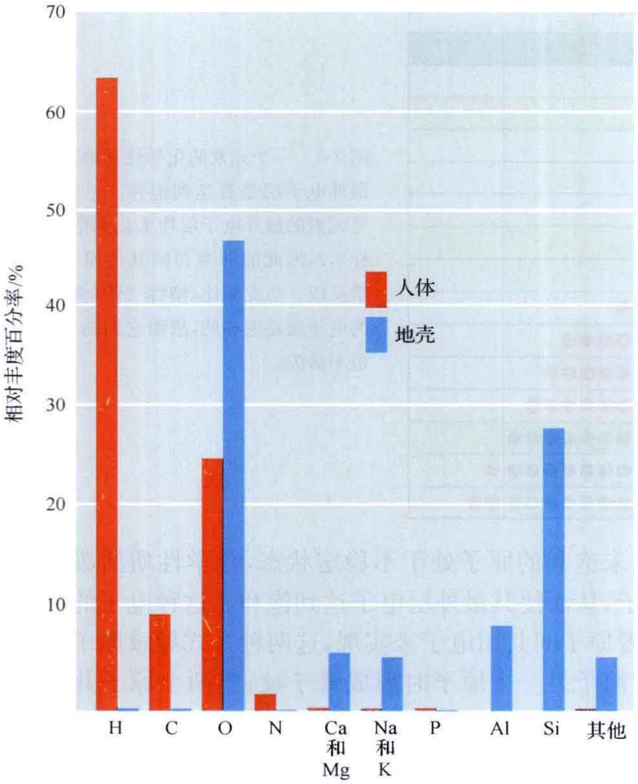


图 2-4　地壳的元素分布与动物组织的化学成分截然不同。在这里，每个元素的丰度以该元素的原子总数占生物或地理样品的百分比来表示。因此，例如，在生物体中 60% 以上是氢原子。所有生物的元素丰度是相似的。

2.1.2　最外层电子决定原子间如何相互作用

要理解原子怎样结合起来形成构成生物的分子的，我们需要特别注意它们的电子。质子与中子在原子核中结合极为紧密，只有在极端情况下才分开，如在放射性衰变时或在太阳内部以

及核反应堆中。在活体组织内，只有原子中的那些电子才能发生重排。电子位于原子的外层，决定了原子形成分子的化学规律。

电子不停地绕原子核运动，但是这种微观层次上的运动遵循着与我们日常生活中所不同的规律。这些规律决定了一个原子中的电子只能存在于某些离散的运动区域之中，简单地说就是一些离散轨道。我们把严格限定所能容纳电子数的特定轨道称为**电子层**。总体上说，最靠近原子核的电子所受到的吸引力最强，它们占据了结合最紧密的内层。而这一层最多只能容纳 2 个电子。第二层电子层离原子核距离稍远，可容纳 8 个电子。与第一层电子层相比，这一层电子结合得不够紧密。第三层中的电子结合相对松散，它也可以容纳 8 个电子。第四层和第五层电子层均可容纳 18 个电子。生物分子中很少含有 4 个以上电子层的原子。

当所有的电子均处于尽可能最紧密的结合状态时，这种电子的排列是最稳定的。也就是说，此时电子位于最内侧的壳层中，最接近于带正电的原子核。因此，除了较大原子中的某些特殊情况之外，电子依次填入这些电子层——第一层先于第二层，第二层先于第三层，以此类推。某些原子的最外层轨道被电子完全填满，它们在化学性质上是不活泼的。例如，氦有 2 个电子(原子序数为 2)，氖有 2+8 个电子(原子序数为 10)，氩有 2+8+8 个电子(原子序数为 18)，这些都是惰性气体。与此相反，氢只有一个电子，它的最外侧电子层只填满一半，因此具有很高的反应活性。生物组织中的原子都有未饱和的外电子层，故而相互反应形成分子(图 2-5)。

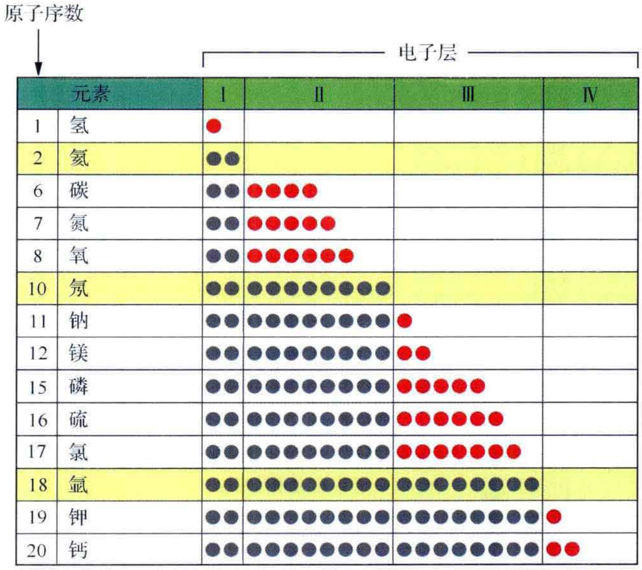


图 2-5 一个元素的化学性质取决于它的最外电子层是否达到饱和。生物体内常见元素的最外电子层均未达到饱和(红色标示)，因此能够参与同其他原子间的化学反应。与此相比，惰性气体(黄色标示)的电子层是饱和的，故而它们的化学性质也不活泼。

与外电子层饱和时相比，外电子层未饱和的原子处于不稳定状态，化学性质活泼。这类原子需要从别的原子那里得到或失去电子，从而使其最外层电子达到饱和。这种电子的交换可以通过从一个原子转移到另一个原子或者原子间共用电子来实现，这两种方式导致原子之间存在两种类型的**化学键**：当一个原子将电子给予另一个原子时形成**离子键**；当两个原子共用电子对时形成**共价键**(图 2-6)。当原子间形成共价键时，电子对的分享通常并不均等，电子被电负性强的原子吸引而靠近它的一边；这就导致极性共价键的产生，关于这个概念我们将在下面的章节予以讨论。

一个氢原子只需再有一个电子即可填满它的电子层，它通过共用电子对来实现，即与另一个原子形成一个共价键；在很多情况下这个共价键是极性的。构成细胞的最基本元素有 C、N 和 O，它们的第二电子层并未达到饱和；还有 P 和 S，它们的第三电子层未充满(图 2-5)。这些

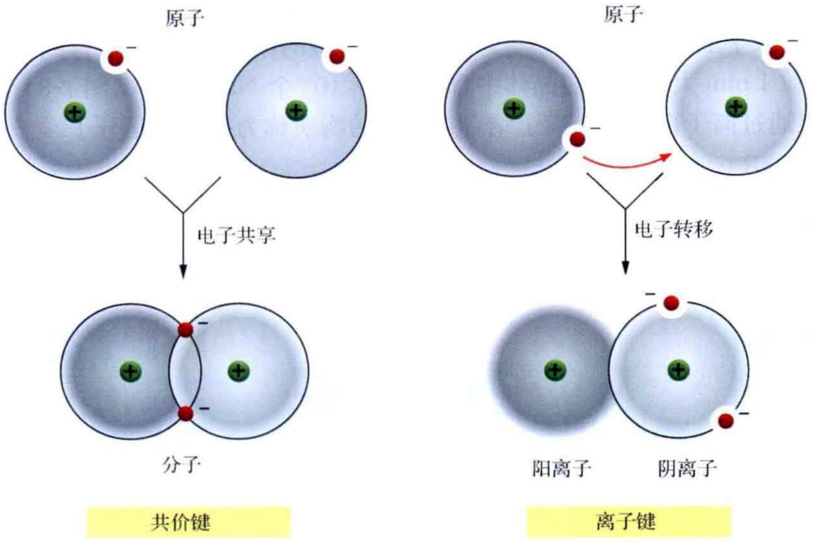


图 2-6　原子通过相互间的作用使得它们最外层的电子处于更为稳定的状态。当原子间共用电子对时，就会形成共价键。当电子从一个原子转移到另一个原子时，就会形成离子键。图中显示两种极端情况；有时共价键会有部分转移（电子的非均等共享），从而产生极性共价键（也参见图 3-11）。

元素需要通过共用电子对来形成多个共价键，从而达到最外电子层为 8 个电子的稳定结构。一个原子能够得到或失去电子的数目决定了它可以形成的化学键的数目。

最外电子层的状态决定了元素的化学性质，当所有元素根据它的原子序数排列时，化学性质相似的元素将出现周期性的重复。例如，第二电子层只有单个电子的元素与第二电子层已饱和但第三电子层也只有单个电子的元素相比，它们的化学性质大致相同。例如，所有金属元素的最外电子层仅含有一个或几个电子。另外，正如我们所看到的，惰性气体的外电子层是饱和的。元素按顺序排列后形成著名的*元素周期表*（图 2-7），这里特别标出了构成生物体的基本元素。

2.1.3　电子的得失形成离子键

当原子的最外电子层刚好有一两个电子，或者它的最外电子层距饱和状态尚缺一两个电子时，这样的原子最容易形成离子键。与共用电子相比，从别的原子得到电子或将电子转移给别的原子，更容易获得一个完全饱和的外电子层。例如，从图 2-5 中我们看到钠（Na）原子的原子序数为 11，它很容易失去最外层仅有的一个电子，而它的第二电子层是饱和的。相反地，一个氯（Cl）原子的原子序数为 17，它很容易获得一个电子而使其外电子层达到饱和。因此，如果一个钠原子和一个氯原子相遇，一个电子就从 Na 转移到 Cl 上，而使这两个原子的外电子层都饱和。钠是一种柔软的且化学性质非常活泼的金属；氯是一种有毒的绿色气体，两者发生化学反应的结果是产生性质稳定的 NaCl（食盐）。

当一个电子从 Na 原子跃迁至 Cl 原子时，二者都成为了带电荷的**离子**。Na 原子失去一个电子，其电子数比质子数少一个，因此它带有一个单位的正电荷（Na^+）；氯原子获得一个电子，其电子数比质子数多一个，因此它带有一个单位的负电荷（Cl^-）。带正电荷的离子被称为*阳离子*，而带负电荷的离子则被称为*阴离子*。根据得到或失去电子的数目还可以对离子进一步的分类。钠原子和钾原子失去一个电子而形成带有一个正电荷的阳离子（Na^+ 和 K^+）；镁原子和钙原子可以失去两个电子而形成带有两个正电荷的阳离子（Mg^{2+} 和 Ca^{2+}）。

由于 Na^+ 和 Cl^- 电荷相反并且互相吸引，因而通过**离子键**它们紧密结合在一起。一粒食盐晶体中含有天文数字般的 Na^+ 和 Cl^- 。Na^+ 和 Cl^- 所带的电荷相反，它们排列在一个精确的三维阵列中。一粒 1 mm 大小的食盐晶体中含有约 2×10^{19} 个 Na^+ 和 Cl^-（图 2-8）。我们一般把像 NaCl 这类仅仅通过离子键将两个离子结合在一起的物质称为盐而不是分子。

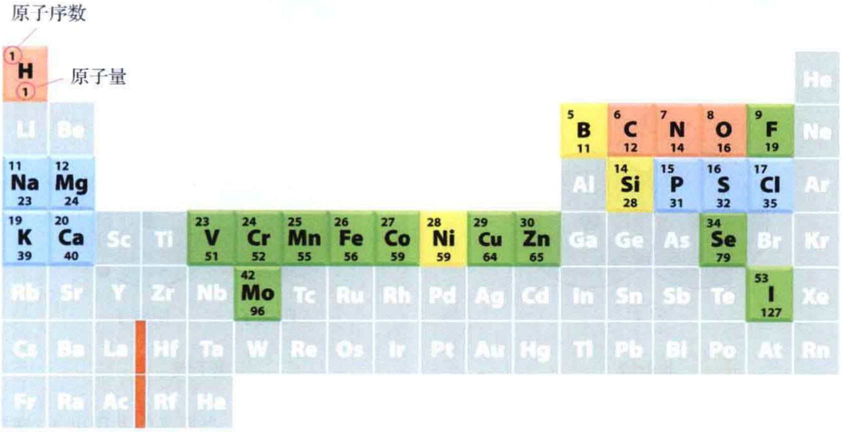


图 2-7 化学元素周期表中的元素根据它们的原子序数排列。根据每个元素拥有最外层电子的数目，将所有元素分成具有相近化学性质的各个族。位于同一列中的元素必须获得（或失去）相同数目的电子才能填满最外电子层，因而它们具有相似的化学键和离子的形成过程。因此，Mg 和 Ca 容易失去最外层的两个电子。

用红色标示的四种元素占构成人体内原子总数的 99%。另外，用蓝色标示的七种元素占人体内原子总数的 0.9%。用绿色标示的其他一些元素是人体必需的微量元素。还有一些用黄色标示的元素目前尚不清楚是否是人体内必需的矿物质。看来，生命的化学主要是轻元素的化学。

作为原子核内质子和中子质量的总和，元素的原子量会由于某个同位素而发生改变。在图中标示的原子量是每个元素最常见同位素的原子量。

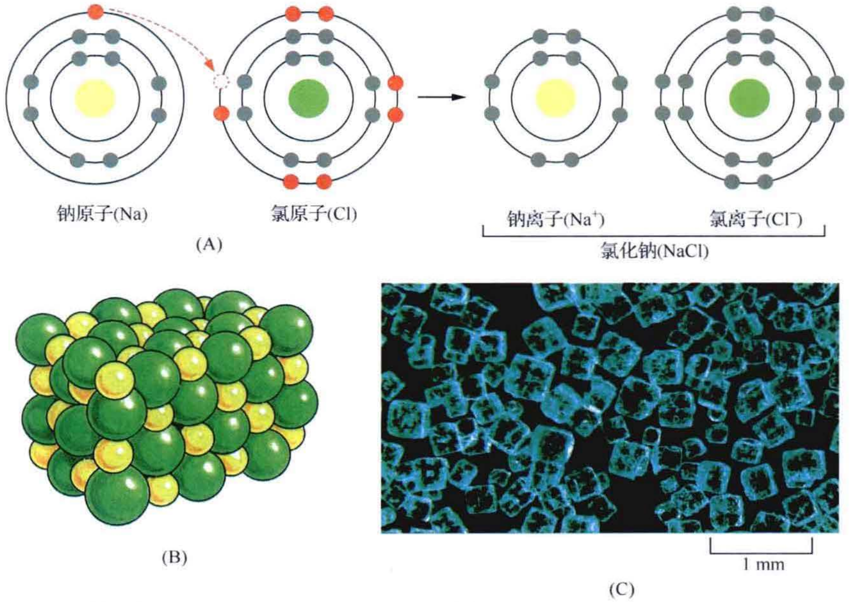


图 2-8 氯化钠由离子键连接而成。（A）一个钠原子（Na）和一个氯原子（Cl）发生相互作用。在图中，每个原子的电子处于不同的能级上；红色颗粒表示化学性质活泼（未完全饱和）的电子。化学反应发生时，一个电子从钠原子转移到氯原子，从而形成两个带有电荷的原子（离子）。这样，每个原子的最外层电子都处于饱和状态。（B）作为钠原子和氯原子的反应产物，氯化钠晶体里的钠离子和氯离子排列紧密，形成一个规则的矩阵，二者的电荷恰好相互平衡。（C）氯化钠晶体照片。

离子键是**静电吸引力**的一种，这种吸引力发生在所带电荷电性相反的原子之间（图版 2-7）。由于水分子与离子之间有良好的相互作用，故许多盐（包括 NaCl）很容易溶解在水中。它们解离形成单个离子（如 Na^+ 和 Cl^-），每一个离子都被一群水分子包围着。在接下来的章节中，我们将继续讨论静电吸引力和原子间的非共价键。

2.1.4 共用电子对形成共价键

一个细胞的全部特性取决于它所包含的分子。一个**分子**是通过**共价键**结合在一起的一簇原子，共价键中的电子是在原子之间共用而不是在原子间转移。通过共用电子对，原子的外电子层达到饱和状态。氢分子（H_2）是最简单的分子，它由两个 H 原子构成。每一个 H 原子有一个电子，它们一起共用两个电子，就能使第一电子层达到饱和状态。共用电子形成电子云，电子云在两个带正电的原子核之间最浓密，帮助两个原子核结合在一起。它抗衡原子核之间同性电荷的相斥作用，否则这种相斥作用会迫使原子核分开。当两个原子核相隔一个特定距离时，电荷吸引力与排斥力相互平衡，这个距离称为**键长**（图 2-9）。

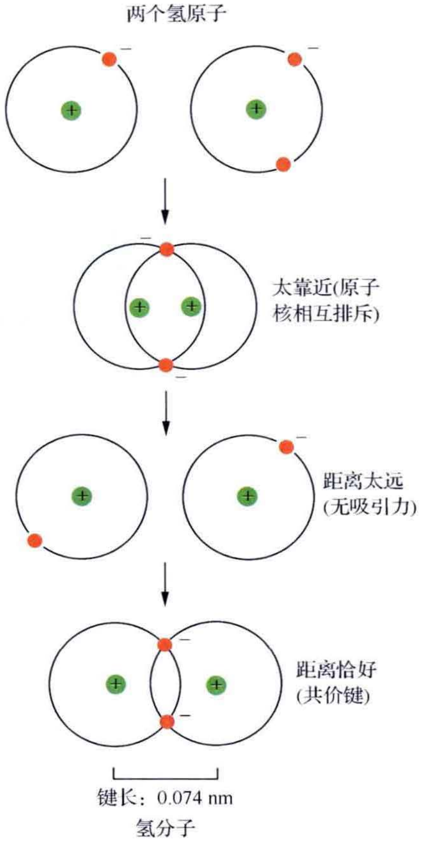


图 2-9　氢分子由共价键连接而成。每个氢原子单独含有一个电子，这就意味着它的第一电子层并未完全饱和。两个氢原子相互靠近后，才能共享两个电子。这样，每个氢原子的第一电子层都达到饱和状态，而共享电子对位于围绕原子核的修正轨道中。两个氢原子共价键的长度是确定的（0.074 nm）。如果这两个氢原子靠得太近，那么带有正电荷的原子核就会互相排斥；如果彼此的距离超过 0.074 nm，则氢原子就不能有效地共享电子。

然而，一个氢原子只能形成单独一个共价键，而在细胞中形成共价键的其他原子 O、N、S 和 P 以及最重要的 C 原子可以形成一个以上的共价键。正如我们已经知道的那样，这些原子最外面的电子层可以容纳 8 个电子，因此它们与尽可能多的其他原子形成共价键来达到这个数目。氧原子的最外电子层有 6 个电子，当它与别的原子共用 2 个电子时最为稳定，此时的氧原子形成 2 个共价键。氮原子的最外层有 5 个电子，最多可以形成 3 个共价键；碳原子的最外层有 4 个电子，最多可以形成 4 个共价键，因此可以共用 4 对电子（图 2-5）。

当一个原子与其他几个原子形成共价键时，这几个键在空间上有一定的方向，也反映出共用电子的轨道的取向。因此，多个原子之间的共价键可以用特定的键角、键长和键能来表示（图 2-10）。例如，一个碳原子可以形成 4 个共价键，碳原子处于正四面体的中心，共价键的方向指向正四面体的 4 个顶角。共价键的精确方向是有机分子三维几何结构的基础。

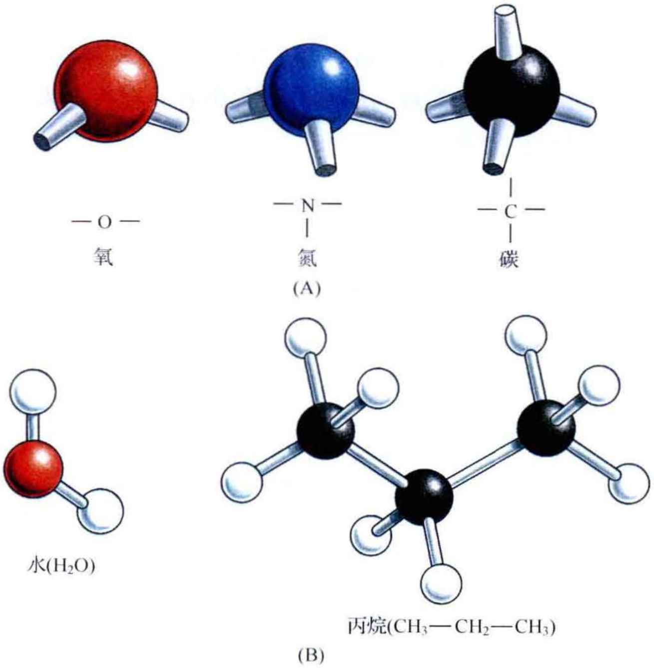


图 2-10 共价键具有特定的几何形状。(A) 氧、氮和碳所形成的共价键的空间排列。(B) 这些由原子形成的分子具有一个精确的三维结构，每个共价键都有特定的键角和键长。例如，一个水分子呈“V”字形，键与键之间的夹角接近 109°。在球棍模型中，不同颜色的球代表原子，棍代表共价键。一般来说，球的颜色代表不同的原子——黑色代表碳原子，白色代表氢原子，蓝色代表氮原子以及红色代表氧原子。这个方法是 1865 年由化学家奥古斯特·威廉·霍夫曼(August Wilhelm Hofmann)创立的。在一场当时举办的关于原子结合能力的报告会中，他用一堆彩色槌球建立了最早的分子模型。

2.1.5 共价键强度的变化

我们已经看到原子间的共价键具有特定的长度。对于无论是共价键还是非共价键来说，更为关键的性质是键的强度。键的强度由断开化学键所需能量的多少来衡量，通常用 kcal①/mol 或 kJ/mol 作为度量单位。我们把 1 L 水升高 1℃所需要的能量值作为 1 kcal。因此，如果断开 6×10^{23} 个键(1 mol 某种类型的键)需要提供 1 kcal 能量，那么这种键的强度是 1 kcal/mol。键能的另一种计量单位是 kJ，这个被物理学家广泛应用的国际单位如今也被细胞生物学家们所使用。1 kcal 约等于 4.2 kJ。几种主要化学键的强度和键长参见表 2-1。

表 2-1 化学键的键长和强度

化学键的类型	键长/nm	强度/(kcal/mol) 真空中	强度/(kcal/mol) 水中
共价键	0.15	90(377)**	90(377)
非共价键：离子键*	0.25	80(335)	3(12.6)
氢键	0.30	4(16.7)	1(4.2)
范德华力(每个原子)	0.35	0.1(0.4)	0.1(0.4)

* 一个离子键指的是两个带电荷的原子之间的静电吸引力。

** 括号内的数值表示 kJ/mol。

表 2-1 共价键和非共价键具有不同的键长和强度。键的强度用断开化学键所需能量的多少来衡量，通常为 kcal/mol 或 kJ/mol 来表示(参见名词汇编中这些度量单位的定义)。我们将两个非氢原子(X)之间的距离定义为一个氢键 X—H—X 的键长。表中的键长和强度均为近似值，因为精确的数值依赖于形成氢键的原子类型。我们将在本章的后半部分描述不同种类的非共价键(详见图版 2-7)。

分子不断地受到环境中其他分子的碰撞，将这种碰撞的平均能量和键能做比较，才能更好

① 1 kcal=4186.8 J，后同。

地理解键能的含义。典型的共价键要比这类碰撞产生的热能强百倍，所以这种碰撞的热能不足以断开共价键。一般只有当它们和其他原子或分子发生特定的化学反应时，共价键才会被断开。在活细胞中，共价键的形成与断开是一个剧烈的事件，因而被高度专一性的催化剂所控制，这类催化剂就是酶。通常来说，非共价键比共价键弱。我们将在下文中看到，在细胞内的许多情况下，各种分子为了实现其功能，必须较容易地结合与解离。因此，非共价键也是很重要的。

2.1.6 共价键有不同的类型

大多数共价键涉及两个电子的共用，由每个原子各提供一个电子；这类共价键称为单键。然而，有些共价键涉及多对电子的共用。如可以共用 4 个电子，由每个原子各提供 2 个电子；这类共价键称为双键。与单键相比，双键键长更短、键能更强，对分子的三维几何结构有特定的影响。两个原子间的单个共价键允许分子的一部分相对于另一部分发生转动。双键使原子排列刚性变大，因而限制了这种转动的发生(图 2-11)。这种限制对许多大分子的三维结构产生了重要的影响。图版 2-1 总结了生物分子中经常出现的几种化学键。

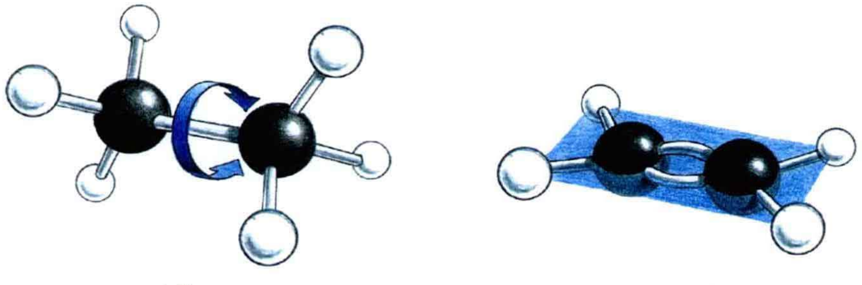


图 2-11 碳—碳双键与单键的比较。(A) 乙烷分子中的两个碳原子之间有一个共价单键，这显示由碳原子形成的单键具有四面体结构。以共价键相连的—CH_3 基团可以围绕键轴产生相对位置的转动。(B) 乙烯分子中，两个碳原子间的双键改变了碳原子单键的几何形状，并将全部原子纳入同一平面；双键阻碍了一个 CH_2 基团相对于另一个 CH_2 基团的转动。

有些分子的原子通过共用电子对产生了具有介于单键和双键之间特性的化学键。例如，化学性质高度稳定的苯分子由 6 个碳原子组成，成键电子均匀地分布在由 6 个碳原子形成的环形里(虽然通常苯环表示为单键与双键交替排列的序列，如图版 2-1所示)。

当不同元素的两个原子通过单个共价键连接时，这两个原子对共用电子的吸引程度是不同的。与 C 原子相比，O 原子和 N 原子吸引电子的能力相对较强，而 H 原子吸引电子的能力较弱(这是因为 C、O、N 和 H 原子核所带正电荷的相对差异)。从定义上看，一个**极性**结构指的是它的正电荷集中于分子的一端(阳极)，而负电荷集中于分子的另一端(阴极)。如果共价键中的电子以这种非均等的形式共用电子，那么这种共价键称为极性共价键。例如，氧原子与氢原子之间的共价键—O—H、氮原子与氢原子之间的共价键—N—H都是极性键(图 2-12)。相比之下，在碳原子与氢原子之间形成的共价键—C—H 中，这两种原子对电子的吸引程度要均等得多，相对也显得非极性化一些。

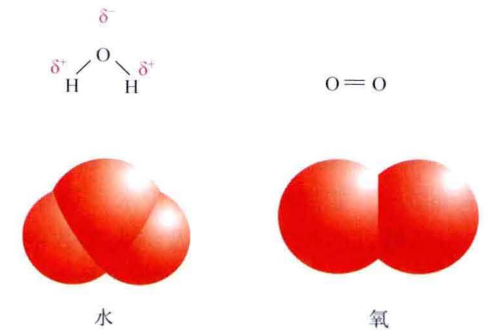


图 2-12 在极性共价键中，电子的共享是不均等的。比较极性分子(如 H_2O)和非极性分子(如 O_2)的电子分布。δ^+ 表示带有部分正电荷；δ^- 表示带有部分负电荷。

2.1.7 静电吸引力帮助细胞内的分子结合在一起

在水溶液中，共价键比原子间的其他静电吸引力强 10～100 倍，这样这种结合成为一个分子与另一个分子之间的边界。但是，大多数生命活动依赖于不同分子之间特异性的相互结合。这种相互结合通过一系列较弱的非共价吸引力来实现，这些作用力之和足以将两个单独的分子结合在一起。之前，我们已经阐述了食盐晶体内的 Na^+ 和 Cl^- 的成键方式是离子键。如 Na^+ 和 Cl^- 那样，当原子带电形成正负离子时，静电吸引力最强。不过，在含有极性共价键的分子间也存在相对较弱的静电吸引力。

极性共价键在生物学中极其重要，因为它们通过电的作用力使分子间发生相互作用。任何含有许多极性基团的大分子，其分子表面上一定有部分区域带正电而另一部分带负电。当这类分子遇到另一个带异性电荷的分子时，二者通过静电吸引力而相互吸引。这种非共价的静电吸引力和刚才我们提到的 NaCl 的离子键相似，只是其作用力比较弱。当两个大分子的表面用这种方式形成大量的非共价键时，这两个分子的表面就会特异性地黏附在一起（图 2-13）。然而在大多数生物体内，水能显著地减少这些电荷相互间的吸引力。

2.1.8 水通过氢键结合在一起

水占细胞重量的 70%，大部分细胞内的反应在水相中进行。地球上的生命起源于海洋，远古时代的环境条件在生物体的化学特性上烙下了永久的印记。因此，生命的化学本质在于水的性质。

每个水分子（H_2O）的两个氢原子通过共价键与氧原子连接。这两个共价键的极性很强，因为氧原子对电子的吸引力强，而氢原子对电子的吸引力弱。因此，一个水分子中的电子分布并不均衡。两个氢原子带有正电荷，而氧原子带有负电荷（图 2-12）。当一个水分子的正电荷区域（其中的一个氢原子）靠近另一个水分子的负电性区域（氧原子）时，它们之间的静电吸引力形成一种键，称为**氢键**。氢键比共价键弱许多，很容易被分子热能所引起的随机热运动所破坏，因此每个氢键只能维持很短的时间。但是，许多氢键的综合效应远非无足轻重。每个水分子通过两个氢原子与另外两个水分子形成氢键，从而形成一个氢键不断断裂也不断形成的网络。正是因为这些氢键，水在室温下才是液体而不是气体，并且具有高沸点和高表面张力。没有氢键的话，生命也就不能存在。我们将在图版 2-2 中综述水对生命的重要性。

并不是所有的氢原子都能形成氢键。通常情况下，当一个分子中带正电荷的氢原子靠近另一个分子中带负电荷的原子（通常是氧原子或氮原子）时，就可以形成氢键。单个大分子的不同部分之间也可以形成氢键，这些氢键有助于大分子维持特定的结构。然而，氢键仅仅是非共价键家族中的一员。非共价键对于大分子特定的折叠方式及其与分子相互结合中起关键作用。在后面的章节里，我们将继续介绍相关内容。

含有极性键且能与水形成氢键的分子极易与水混合，如乙醇。如前所述，带有正电荷或负电荷的分子（如离子）都易溶于水。这些分子具有**亲水性**。细胞中的大部分分子必定属于这一类，包括糖、DNA、RNA 以及绝大多数的蛋白质。与此相反，**疏水性**的分子不带电荷且极少形成氢键，因此不溶于水。碳氢化合物就是一个疏水性细胞组分的典型例子（图版 2-1）。在这些分子中，H 原子通过非极性的共价键与 C 原子相连接。由于氢原子基本没带正电荷，故它不能同其他分子形成有效的氢键。这就使碳氢化合物具有很好的疏水性。正如我们在第 11 章中介绍的那样，细胞利用了这类物质的疏水性，通过尾部含有长烃链的分子构成细胞膜。因为它们不溶于水，这些疏水的化合物形成薄薄的膜屏障，并将膜内外的水环境分离开来。

2.1.9 一些极性分子在水溶液中形成酸和碱

如果一个分子的氢原子与另一个原子之间形成一个高度极性的共价键，那么当这个分子溶于水时，就发生了一个最简单却对细胞具有重要意义的化学反应。这种分子的氢原子几乎将它的电子完全转移到了相邻的原子，从而成为一个带正电荷的原子核——换句话说，一个质子(H^+)。当这个极性分子被水分子包围时，质子就被相邻水分子中氧原子的局部负电荷所吸引；这个质子从原来结合的一个原子上脱离下来，进而与水分子中的氧原子结合，产生一个**水合氢离子(H_3O^+)**(图 2-14A)。这个反应的逆反应也很容易发生，所以可以设想当达到一个平衡状态时，数以亿万计的质子总是不停地从溶液中的这一个分子跑到另一个分子。

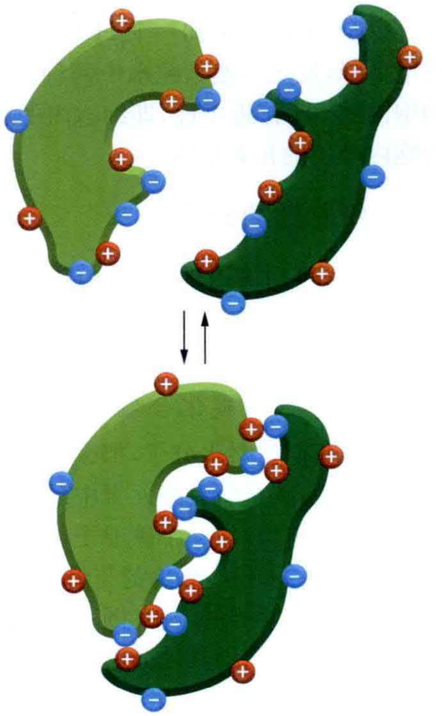


图 2-13 蛋白质等大分子通过它们表面上互补的电荷而相互结合。

溶于水并能释放质子形成 H_3O^+ 的物质称为**酸**。H_3O^+ 的浓度越高，溶液酸性越强。即使是纯水中也存在 H_3O^+，其浓度为 10^{-7} mol/L，这是由于质子从一个水分子跑到另一个水分子所造成的(图 2-14B)。在传统意义上，H_3O^+ 的浓度还是称为 H^+ 浓度，虽然水溶液中的大部分 H^+ 是以 H_3O^+ 形式存在的。为避免数字的使用不便，H_3O^+ 浓度用对数表示，称为 **pH**，如图版 2-2 所示。纯水的 pH 为 7.0，因此是中性的，不是酸性($pH<7$)也不是碱性($pH>7$)。

由于水合氢离子的质子很容易转移到细胞内的许多种分子上，并改变它们的性质，因此细胞内水合氢离子的浓度(酸度)必须受到严格的调控。当溶液中 H_3O^+ 浓度过低时，酸(特别是弱酸)就更容易把质子释放出去；如果溶液中的 H_3O^+ 浓度过高，它们又能接收质子。

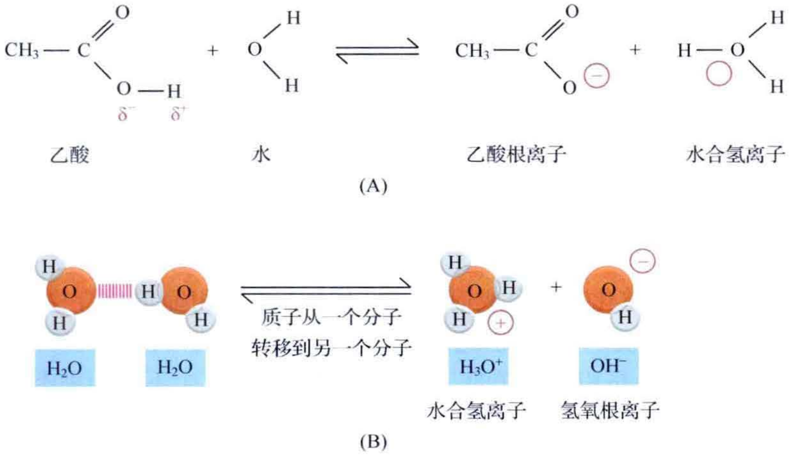


图 2-14 质子在水溶液中连续移动。(A) 一个乙酸分子溶解在水中时发生的反应。在 pH=7.0 时，几乎所有的乙酸都以乙酸根离子的形式存在。(B) 水分子相互间不停地交换质子，产生水合氢离子和氢氧根离子。反过来，这些离子又迅速再结合而形成水分子。

与酸相对应的是**碱**。凡是能接收质子的任何分子都被称为碱。正像酸所定义的那样，酸提供质子并把质子转移给水分子，从而提高了 H_3O^+ 的浓度。故而碱的性质是使水分子失去一个

质子，从而提高了氢氧根（OH^-）离子的浓度。因此，NaOH 是碱性的，因为它在水溶液中解离生成 Na^+ 和 OH^-。对于活细胞来说，更为重要的是弱碱，它能够从水分子中获得一个质子。许多细胞内重要的弱碱含有—NH_2 基团，它能够从水中获取一个质子而产生 OH^-：$-NH_2+H_2O \longrightarrow -NH_3^+ + OH^-$（图版 2-2）。

一个 OH^- 离子和一个 H_3O^+ 离子结合形成两个水分子，所以 OH^- 浓度增高将促使 H_3O^+ 浓度下降，反之亦然。纯水中两种离子的浓度均为 10^{-7} mol/L，表现为中性。借助**缓冲**现象，细胞内的 pH 接近中性，即细胞内的弱酸和弱碱通过释放和接受质子使 pH 在 7.0 附近，以维持胞内环境的相对稳定。

2.2 细胞内的分子

刚才我们了解了原子结合成小分子的方式以及这些分子在水环境中的行为，现在我们要介绍细胞中几类主要的小分子和它们的生物学功能。令人惊奇的是，由少数几种元素形成的几类基本的分子竟然产生了生物形态与行为的多样性。

2.2.1 细胞由碳化合物构成

倘若我们忽略水分子，那么细胞内几乎所有的分子都是以碳元素为基础的。在形成大分子的能力方面，碳是所有的元素中最突出的，硅则次之。因为碳原子小，其最外电子层有四个电子和四个电子空位，故一个碳原子可以与其他原子形成四个共价键。最重要的是，一个碳原子可用高度稳定的 C—C 共价键与另一个碳原子结合形成链或环，因而产生复杂的大分子，并且分子大小不存在明显的上限（图版 2-1）。由细胞产生的大大小小的碳化合物称为*有机分子*。与之相比，包括水在内的其他分子称为*无机物*。

原子的某些组合，如甲基（—CH_3）、羟基（—OH）、羧基（—COOH）、羰基（=C=O）、磷酸基（—PO_3^{2-}）和氨基（—NH_2）在有机分子中反复出现。这类**化学基团**每一种都有其独特的物理和化学性质，影响基团所在分子的行为，例如，它们是否能够得到或失去电子、哪些分子与之相互作用等。对这类化学基团及其化学性质的了解可以帮助人们简化对生命的化学的观念。图版 2-1总结了最常见的化学基团及其部分特性。

2.2.2 细胞含有四种主要的有机小分子

细胞的有机小分子是分子量为 100～1000 的碳化合物，分子中含有多达 30 个左右的碳原子。在细胞质的溶液中，这些小分子通常呈游离状态，并有许多不同的命运安排。有的有机小分子被作为单体组成细胞中的多聚大分子——蛋白质、核酸和多糖。另一些则被作为能量来源加以分解并在胞内代谢过程中转变成为其他小分子。许多有机小分子在细胞内具有多种功能。例如，它们既可以作为一种大分子潜在的亚基，又可以作为能量来源。有机小分子远不及有机大分子那么丰富，它们约为细胞内有机物总量的 10%（表 2-2）。粗略统计，一个细胞中可能有 1000 种不同的小分子。

所有的有机分子均从相同的一组简单化合物合成而来并且分解为同一组简单化合物。有机分子的合成和分解经过一系列的化学反应而实现，这些化学反应具有明确的按部就班的规律。因此，细胞内的化合物在化学本质上是相互关联的，大部分可被归纳到几个不同的种类中。大致上说，细胞含有四种主要的有机小分子：*糖*、*脂肪酸*、*氨基酸*和*核苷酸*（图 2-15）。虽然细胞内还有许多化合物不能归入这几大类中，但这四类有机小分子以及由这些小分子连接而成的长链大分子却占到细胞物质总量的绝大部分（表 2-2）。

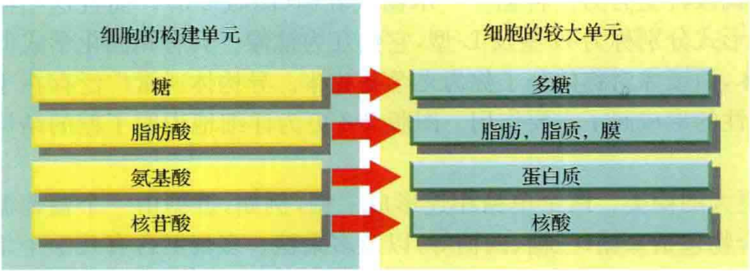


图 2-15 糖、脂肪酸、氨基酸和核苷酸组成细胞内四种主要的有机小分子。它们是绝大部分大分子和细胞其他组分的单体构件(亚基)。其中一些分子，如糖和脂肪酸，还是细胞的能量来源。

表 2-2 一个细菌细胞的化学成分

	占细胞总重量的百分比/%	每类分子的数目
水	70	1
无机离子	1	20
糖及其前体	1	250
氨基酸及其前体	0.4	100
核苷酸及其前体	0.4	100
脂肪酸及其前体	1	50
其他小分子	0.2	约 300
大分子(蛋白质、核酸、多糖和磷脂)	26	约 3000

2.2.3 糖是细胞的能源，也是多糖的亚基

最简单的**糖**是单糖，是一些化学式为$(CH_2O)_n$的化合物，其中 n 通常等于 3、4、5 或 6。从这个简单的化学式来看，糖以及由糖组成的化合物也被称为碳水化合物。例如，葡萄糖的化学式是 $C_6H_{12}O_6$(图 2-16)。然而，化学式并没有明确表示分子的特性，同样一组碳、氢、氧，可以通过不同形式的共价键结合在一起，形成各不相同的结构。例如，只要改变某个—OH 基团相对

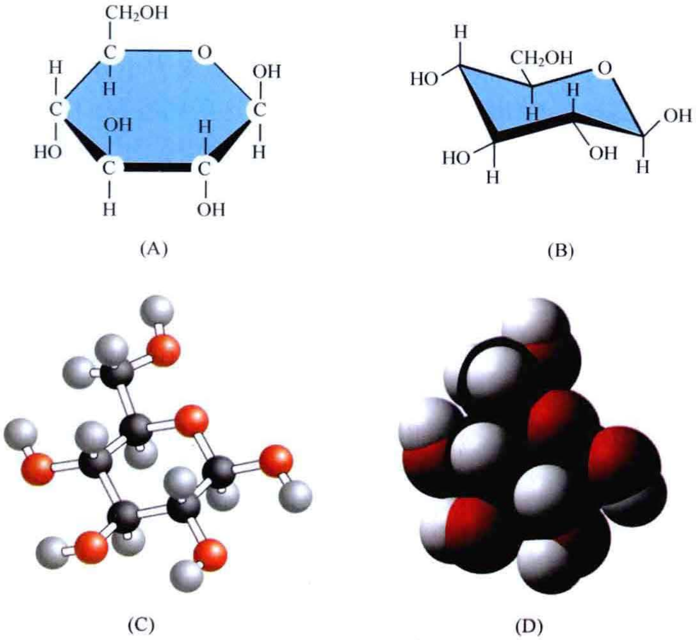


图 2-16 葡萄糖结构的几种表示方法。(A) 在葡萄糖结构式中，原子用化学符号表示，并用代表共价键的实线连接。粗线用以标示糖环平面，并显示—H 和—OH 基团并不位于环面上。(B) 用“椅式构象”显示了葡萄糖的三维结构。(C) 球棍模型表示原子在空间里的三维排列。(D) 空间填充模型也能描绘原子的三维结构，还表示了原子的相对大小和分子的表面轮廓。(C)和(D)的原子颜色如下：C，黑色；H，白色；O，红色。以上这些是原子常规的色彩编码方法(图 2-10)，我们还将在本书中用到该方法(视频 2.1)。

于分子其余部分的方向，葡萄糖就被转变为另一种糖——木糖或乳糖(图版 2-3)。而且这些糖每种都可以有两种形式，这两种形式分别称为 D-型及 L-型，它们互为镜像。具有相同化学式但结构不同的一组分子称为异构体，而镜像对称的分子称为光学异构体。异构体通常广泛存在于有机分子中，它们对于糖的多样性的形成起了主要作用。图版 2-3 更为详细地说明了糖的结构和化学性质。

单糖经糖苷键连接后形成更大的糖类。两个单糖相连形成二糖，例如，蔗糖由一个葡萄糖与一个果糖组成。更大的糖聚合物包括寡糖(三糖、四糖等)以及多聚糖。多聚糖含有几千个单糖单体。在很多情况下，前缀“oligo-”特指由 3～50 个单体组成的大分子。与此相反，聚合物则含有成百上千个单体。

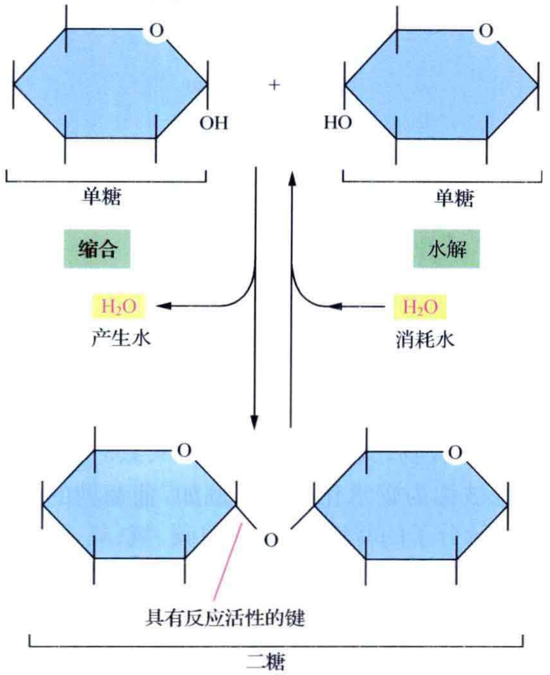


图 2-17　两个单糖连接形成一个多糖。这个反应属于一类普通反应，称为缩合反应。在反应中，两个分子连接在一起而失去一分子水。逆反应(反应里已加入水)被称为水解反应。

糖连接在一起的方式体现了生化键形成的一些共性。一个糖的—OH 基团与另一个糖的—OH 基团经**缩合反应**后，失去一个水分子，同时形成糖苷键(图 2-17)。其他聚合物(如核酸和蛋白质)的亚基也是通过缩合反应失去水分子后连接形成的。所有这些靠缩合反应形成的键都可被其逆过程——水解反应所破坏，在水解过程中要消耗水分子(图 2-17)。

每一个单糖有几个羟基可以与其他单糖(或其他一些化合物)连接，糖聚合物因而可以是分叉的，故可能的多糖结构也就极其丰富。正是由于这个原因，确定一个多糖中糖的序列远比确定核苷酸的 DNA 序列要复杂，因为 DNA 分子的每个单元都以完全相同的方式与下一个单元相连接的。

单糖葡萄糖是细胞的主要能量来源。葡萄糖通过一系列反应被分解成为小分子，并释放出能量以供细胞使用，这些内容我们将在第 13 章中加以阐述。细胞仅能利用由葡萄糖亚基组成的多糖——在动物中主要是糖原，在植物中主要是淀粉。这些多糖被用作葡萄糖的长期库存和能量的储备。

糖除了具有产生和储备能量的功能之外，还可用于制造机械力上的支撑物。地球上最丰富的有机物是用来构成植物细胞壁的纤维素，它是一种由葡萄糖构成的多糖。另一种特别丰富的有机物是昆虫外骨骼和真菌细胞壁上的几丁质，它是一种由糖的衍生物(*N*-乙酰葡糖胺)构成的聚合物(图版 2-3)。另一些多糖受潮后就变得光滑，它们是黏质、黏液及软骨的主要成分。

小分子寡糖可以和蛋白质共价连接形成糖蛋白，也可以和脂类连接形成糖脂(图版 2-4)。糖蛋白与糖脂存在于细胞膜上。大多数细胞膜表面所覆盖的糖的多聚体属于糖蛋白和糖脂。这些糖的侧链可被其他细胞选择性地识别。人红细胞表面糖的细微差异是产生不同血型的分子基础。

2.2.4 脂肪酸是细胞膜的组分

一个**脂肪酸**分子，比如棕榈酸（图 2-18），有两个化学上独特的部分。其中一个是一条长烃链，它是疏水性的，而且化学性质不很活泼；另一部分是一个羧基（—COOH），它具有酸的性质（羧酸）：它能在溶液中电离（—COO⁻），亲水性好且化学性质活泼。一个细胞中几乎所有的脂肪酸都是通过它们的羧基与其他分子共价连接而成的（图版 2-4）。既具有亲水区又具有疏水区的分子称为两性分子，例如，脂肪酸。

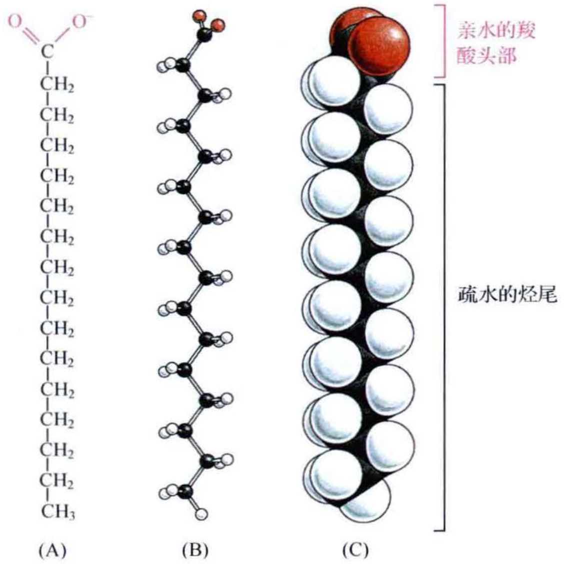


图 2-18 脂肪酸同时含有疏水性和亲水性的组分。疏水的烃链连接到一个亲水的羧基基团。这里所表示的是棕榈酸。不同的脂肪酸含有不同的烃尾。(A) 结构式。羧酸基团显示为离子形式，因为它位于 pH=7.0 的水中。(B) 球棍模型。(C) 空间填充模型（视频 2.2）。

棕榈酸的烃链是饱和的，其碳原子之间没有双键，并且含有最多数量的氢原子。硬脂酸是动物脂肪中的另一种普通脂肪酸，它也是饱和的。还有一些脂肪酸如油酸，其不饱和的尾部烃链中有一个或多个双键。这些双键促使分子发生扭转，影响它们在固体中凝结在一起的能力。硬质（饱和的）与软质（多不饱和的）黄油的区别正是由这个原因造成的。细胞膜上有脂肪酸，它们排列的紧密程度影响膜的流动性。细胞中有许多不同的脂肪酸，其差别仅在于它们的烃链长度以及碳—碳双键的个数和位置（图版 2-4）。

脂肪酸作为细胞内养料的浓缩储存库：因为脂肪酸分解所产生的有效能量相当于等质量葡萄糖的 6 倍。在很多细胞的细胞质中，脂肪酸以*三酰甘油*分子的油滴形式储藏起来。三酰甘油分子由三个脂肪酸链与一个甘油分子相连而成（图版 2-4）。这些分子就出现在乳脂、黄油和肉类中的动物脂肪中，以及玉米油、橄榄油等植物油中（图 2-19）。当一个细胞需要能量时，脂肪酸链就从三酰甘油中水解出来并分解成为二碳单元；这些二碳单元像从葡萄糖分解产生的二碳单元一样，进入同样的产能反应途径。这些内容我们将在第 13 章中加以阐述。

包括三酰甘油在内的脂肪酸及其衍生物是*脂类*的一些例子。这一类生物分子的定义并不严格，它们的共同特征是不溶于水而溶于脂肪和苯等有机溶剂。脂类一般含有长的烃链，如脂肪酸异戊二烯类，或者含有多个相连的芳香环，如甾族化合物（图版 2-4）。

在形成细胞膜的过程中，脂肪酸发挥了重要的功能。这种薄膜围住所有细胞和细胞内部的细胞器。细胞膜主要由磷脂组成。*磷脂*是类似于三酰甘油的小分子，主要由脂肪酸与甘油组成。在磷脂中甘油与两个脂肪酸连接，而三酰甘油中甘油与三个脂肪酸连接。甘油上的第三个羟基位置连接一个亲水的磷酸基团，磷酸基团转而再与一个小的亲水化合物如胆碱连接（图

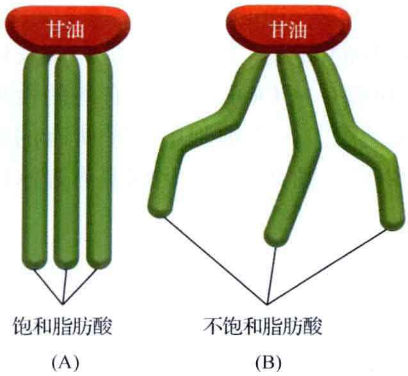


图 2-19 脂肪的性质依赖于它们所包含的脂肪酸侧链。脂肪酸以三酰甘油的形式储存在许多细胞的细胞质中。三酰甘油由三分子长链脂肪酸和一分子甘油结合而成。(A) 在猪肉和奶制品中可以找到饱和脂肪，例如，三硬脂酸酯。脂肪酸链不含双键导致分子间排列紧密，这也就是奶油和猪油在室温下为固态的原因。(B) 以玉米油为例，植物油含有不饱和脂肪酸。不饱和脂肪酸又可进一步分为单不饱和脂肪酸(只含一个双键)和多不饱和脂肪酸(含有多个双键)。双键使脂肪酸链发生弯曲，阻止分子间的紧密排列。正是这个原因，植物油在室温下为液态。尽管脂肪是饮食中必需的，但饱和脂肪酸会增加血液中胆固醇的浓度，引发动脉阻塞，导致心脏疾病。正因为如此，制造商已经不在包装食品中使用饱和脂肪。

版 2-4)。磷脂具有很强的两性分子的特性：每个磷脂分子由一个疏水性的尾部和一个亲水性的头部组成；两条脂肪酸链位于尾部，磷酸基团位于头部。这就赋予磷脂分子不同于三酰甘油的物理性质和化学性质，因为三酰甘油是完全疏水性的。细胞膜上的其他脂类含有一个或多个糖分子。正如我们在第 16 章所看到的那样，有些糖脂在细胞内信号传递上发挥了重要功能。

磷脂的成膜特性出于它们的两性分子特性。磷脂会扩散并分布于水的表面形成磷脂单分子层，它们疏水的尾部朝外，而亲水的头部与水接触。在水中，两层这样的磷脂单分子层以尾对尾的方式结合形成一个磷脂夹层，或称为*脂双分子层*，它是形成细胞膜的结构基础(图 2-20，将在第 11 章中讨论)。

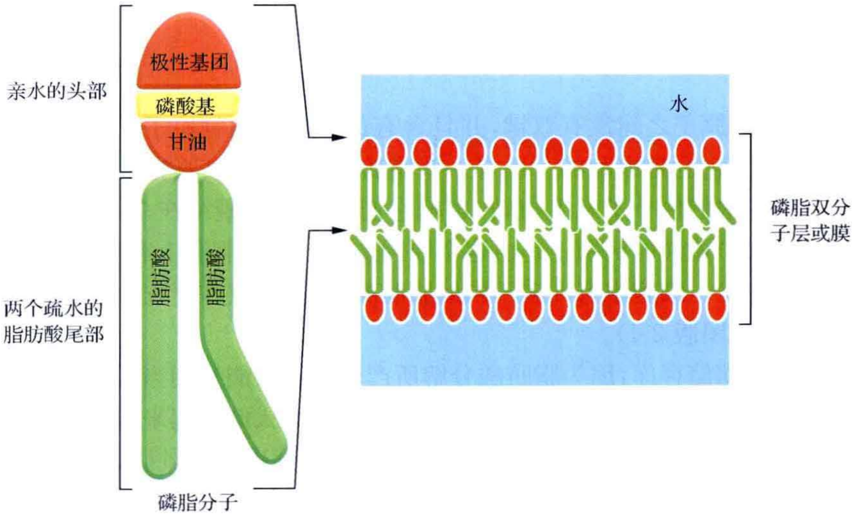


图 2-20 磷脂聚集形成细胞膜。磷脂由两个疏水的脂肪酸尾部和一个亲水的头部连接而成。在水溶液中，磷脂的亲水尾部凝集在一起而排斥水，形成一种脂双层结构，每个磷脂分子的亲水头部朝向水溶液。

2.2.5 氨基酸是蛋白质的基本构成单位

氨基酸是一类具有一种确定特性的多样化的分子：它们都有一个羧基和氨基，两种化学基团与同一个碳原子连接，这个碳原子称为 α-碳原子(图 2-21)。它们的化学多样性来自于连接在 α-碳原子上的侧链。细胞利用氨基酸制造**蛋白质**。蛋白质是一条由氨基酸头尾连接而成，并折叠形成特定三维结构的长链聚合物。

蛋白质中两个相邻氨基酸之间的共价连接称为肽键；氨基酸链也称为多肽(图 2-22)。相邻氨基酸发生缩合反应形成肽键。不管多肽由哪些特定氨基酸组成，它的一端肯定是一个氨基($—NH_2$)(它的 N 端)，而另一端是一个羧基(—COOH)(它的 C 端)。这就使多肽或蛋白质具

有一种确定的方向性——一种结构上的极性(与电极性不同)。

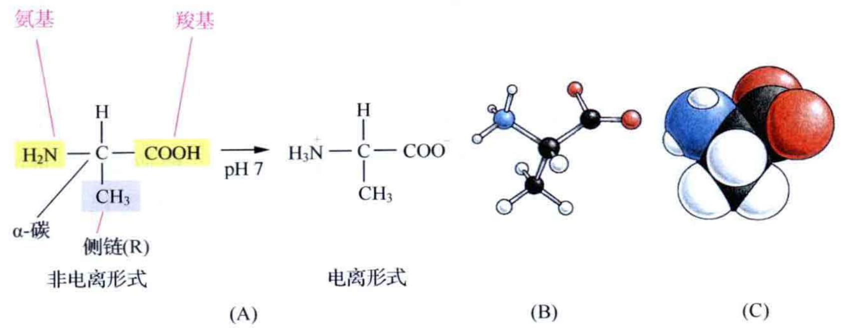


图 2-21 丙氨酸是最简单的氨基酸。(A) 细胞内的 pH 接近 7,游离的氨基酸以离子的形式存在;但是当它被连接到多肽链时,氨基和羧基上所带的电荷便消失了。(B) 丙氨酸的球棍模型。(C) 丙氨酸的空间填充模型(C 原子,黑色;H 原子,白色;O 原子,红色;N 原子,蓝色)。

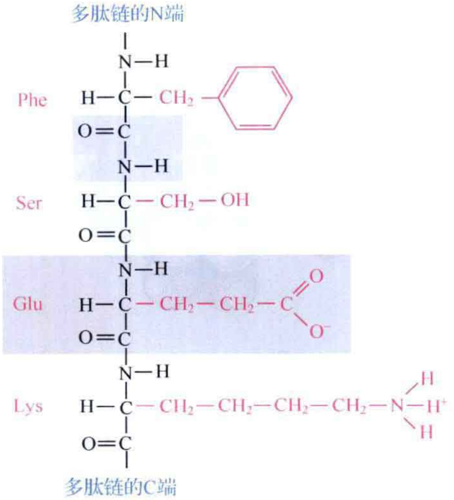


图 2-22 蛋白质通过肽键相连。图中的四个氨基酸通过三个肽键相连。其中的一个肽键用黄色标示,氨基酸用灰色标示,氨基酸的侧链用红色标示。一条多肽链两端的化学性质各不相同。肽链的 N 端是一个氨基,而它的 C 端是一个羧基。我们用三个英文字母或单个字母的缩写来表示蛋白质或多肽的氨基酸序列,并从 N 端的氨基酸序列开始读取(图版 2-5)。以图中多肽为例,它的序列为 Phe－Ser－Glu－Lys(或者 FSEK)。

在蛋白质中有 20 种氨基酸,每种氨基酸与 α-碳原子连接的侧链各不相同(图版 2-5)。这 20 种氨基酸普遍存在于细菌、植物和动物的所有蛋白质中。如何恰好选定这 20 种氨基酸呢?这是生命进化中的一个奥秘,没有明显的化学上的原因可以说明为什么不是别的氨基酸。但是一旦在某个位置选定某个氨基酸,便不能更改。有很多化学上的发展在探究这个问题。替换细胞内氨基酸种类的代价是生物体必须改变整个代谢来应对体内这个新的组分。

像糖那样,所有氨基酸(除甘氨酸外)都存在 D-和 L-型的光学异构体(图版 2-5)。但是,组成蛋白质中的氨基酸只有 L-型(虽然一部分细菌的细胞壁和一些抗生素中存在 D-型氨基酸)。为什么在蛋白质合成中如此专一性地使用 L-型氨基酸?这也是生物进化中的一个奥秘。

这 20 种氨基酸所提供的化学多样性对于蛋白质功能来说是至关重要的。其中的 5 种氨基酸的侧链可以在溶液中形成离子,从而可以携带电荷(如赖氨酸和谷氨酸,图 2-22)。其余的氨基酸不带电荷。有些氨基酸是极性和亲水性的,有些氨基酸是非极性和疏水性的(图版 2-5)。正如我们将在第 4 章所讨论的,氨基酸侧链的特性是构成蛋白质功能多样性的基础。

2.2.6 核苷酸是 DNA 及 RNA 的亚基

核苷由一个含氮环的化合物与一个五碳糖(戊糖)相连而成,这个戊糖既可以是核糖也可以是脱氧核糖(图版 2-6)。一个核苷的戊糖连有一个或多个磷酸基团成为**核苷酸**。含有核糖的核苷酸称为核糖核苷酸,含有脱氧核糖的核苷酸称为脱氧核糖核苷酸。

由于历史原因,含氮环通常被称为碱基:在酸性条件下每个碱基能结合一个 H^+(质子),因

此增加了水溶液中 OH^- 的浓度。不同碱基之间有一种很高的相似性。胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)、尿嘧啶(U)均称为嘧啶,因为它们都是从一个六元嘧啶环衍生而来的;鸟嘌呤(G)和腺嘌呤(A)是嘌呤化合物,具有一个双环结构(五元环与六元环相连)。每个核苷酸按其所含的碱基来命名(图版 2-6)。

核苷酸可以作为化学能的短暂携带者。最重要的一种核糖核苷酸是三磷酸腺苷,或称为 ATP(图 2-23),它参与细胞中几百种化学反应的能量转移。食物经氧化分解后释放能量,通过反应形成 ATP。它的三个磷酸基团经两个磷酐键串联起来(图版 2-6),磷酐键的断裂释放出大量可供使用的能量,尤其是末端的磷酸基团常常发生水解反应而解离下来(图 2-24)。在很多情况下,这个磷酸基团被转移到其他的分子上并释放能量,推动细胞内需要能量的生物合成反应。另一些核苷酸衍生物可作为某些化学基团转移的载体。这些内容我们将在第 3 章中加以叙述。

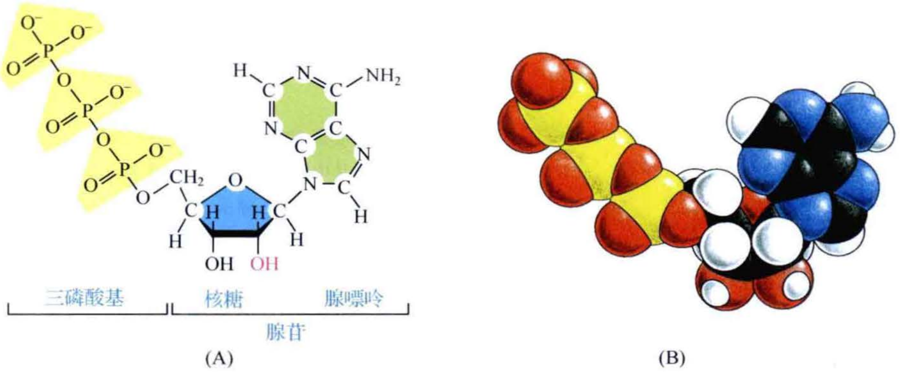


图 2-23 三磷酸腺苷(ATP)的活性位于它末端的磷酸基团中。(A) ATP 的结构式。三个磷酸基团用黄色标示。(B) ATP 的空间填充模型(视频 2.3)。图中彩色的原子分别为:C 原子,黑色;H 原子,白色;N 原子,蓝色;O 原子,红色;P 原子,黄色。与 ATP 相比,脱氧三磷酸腺苷(dATP)的区别在于图(A)结构式中的一个羟基(红色表示)被替换成了氢原子。

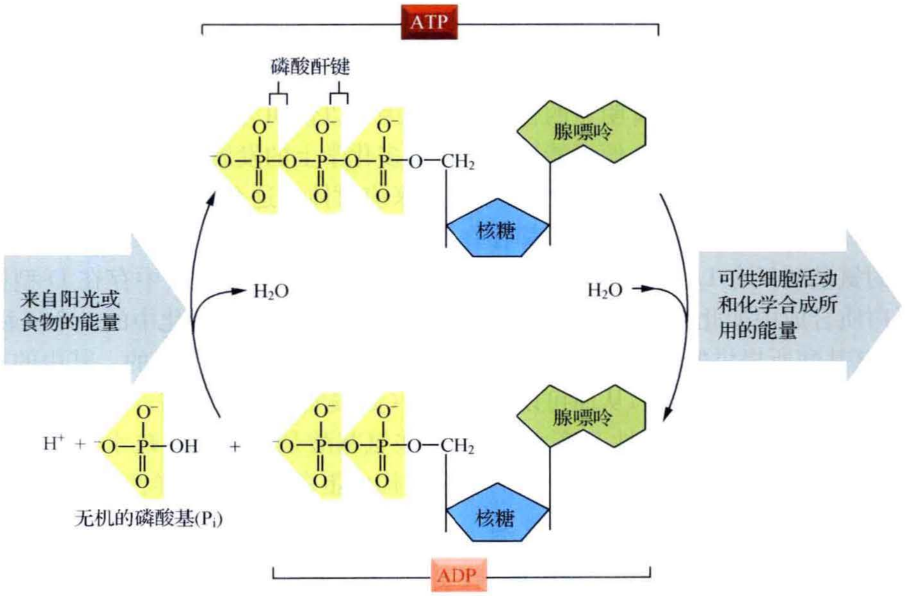


图 2-24 ATP 分子是细胞内的能量载体。用 ADP 和无机磷酸分子合成 ATP 的过程需要能量,这个过程与食物的产能氧化过程(在动物、真菌和某些细菌中)或捕光过程(在植物细胞和某些细菌中)相关联。ATP 反过来再水解成 ADP 和无机磷酸,并为细胞内的许多生物反应提供能量。这些反应合起来形成 ATP 循环。

在细胞中，核苷酸最基本的功能是生物信息的储存和读取。核苷酸是构成核酸的结构单元。核酸中的核苷酸亚基经共价键连接而成，这种共价键是一个核苷酸戊糖上的磷酸基团与下一个核苷酸戊糖上的羟基之间形成的磷酸二酯键(图 2-25)。核酸链是由高能的核苷三磷酸经缩合反应而成，形成磷酸二酯键时释放一分子的焦磷酸(图版 2-6)。

依据核酸糖-磷酸主链上糖的差别可把核酸分为两类。基于核糖的核酸类型称为**核糖核酸**或 **RNA**，包括碱基 A、G、C 和 U。基于脱氧核糖(核糖碳环 2 位处的羟基被氢取代，图版 2-6)的核酸类型称为**脱氧核糖核酸**或 **DNA**，包括碱基 A、G、C 和 T(T 与 RNA 中的 U 在化学上相似)(图 2-25)。在细胞中，RNA 一般以单链的形式出现，而 DNA 是双链的分子：它是由两条聚核苷酸链经碱基之间的氢键相连而成的双螺旋结构。

一个 DNA 或 RNA 分子的核苷酸序列编码了细胞的遗传信息。然而，在细胞里这两种核酸的功能稍有不同。具有稳定双螺旋结构的 DNA 是遗传信息的储存库，而单链 RNA 通常只是遗传分子的瞬时载体。各种核酸分子中的碱基互相识别的能力和氢键配对(又称碱基配对)的能力是遗传和进化的基础。其中 G 与 C 配对，A 与 U 或 T 配对，这些内容将在第 5 章中进一步阐释。

2.3 细胞内的大分子

按质量计算，活细胞中的大分子是含量最丰富的含碳分子(图 2-26)。它们是构建细胞的主要结构单元，也是赋予生物独特性质的组分。**大分子**大小适中，复杂性介于小分子与细胞器之间，是将有机小分子(称**单体**或**亚基**)共价连接而成的长链**聚合物**(图 2-27)。然而，它们具有许多意想不到的特性，这些特性并不能根据它们的简单组分加以预测。例如，DNA 和 RNA 分子(核酸)储存并传递遗传信息。

蛋白质尤为多样，在细胞中执行几千种不同的功能。许多蛋白质是酶，能够催化细胞内的化学反应，包括参与细胞从食物分子中提取能量等反应。酶用来合成细胞所需的各种分子。例如，位于植物叶绿体中的核酮糖二磷酸羧化酶能把 CO_2 转变成糖；因而，这个蛋白质制造了生命世界所需的绝大部分有机物。另一些蛋白质用于构建细胞的结构组分，如微管蛋白就是一

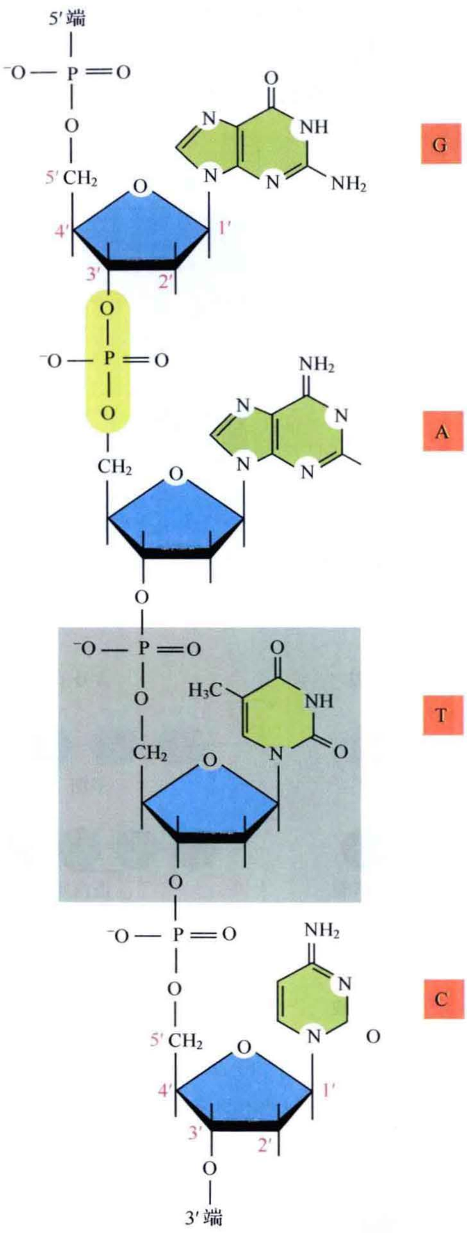


图 2-25　图示为一个脱氧核糖核酸(DNA)长链的一小段，其中包含了由核苷键相连的四种核苷酸。位于核糖 5′-和 3′-碳原子之间的是由磷酸二酯键连接相邻的两个核苷酸。正是由于这个原因，一条多聚核苷酸链的 5′端有一个游离的磷酸基团，而 3′端有一个游离的羟基。灰色方框表示一个核苷酸；一个核苷酸的磷酸基团连接到相邻核苷酸的羟基上，形成磷酸二酯键，图中用黄色标出。一条多聚核苷酸链中核苷酸的线性序列通常缩写成一个英文字母，序列从 5′端开始读取。以图中为例，它的序列为 G—A—T—C。

种经自组装而形成细胞内微管的蛋白质(图 1-27B)。组蛋白把细胞的 DNA 包装到染色体中。还有一些蛋白质作为分子马达能产生力与运动,如肌肉中的肌球蛋白。在下文中,我们将介绍许多特定功能的分子基础。在这里,我们先来思考大分子形成这些功能的化学原理。

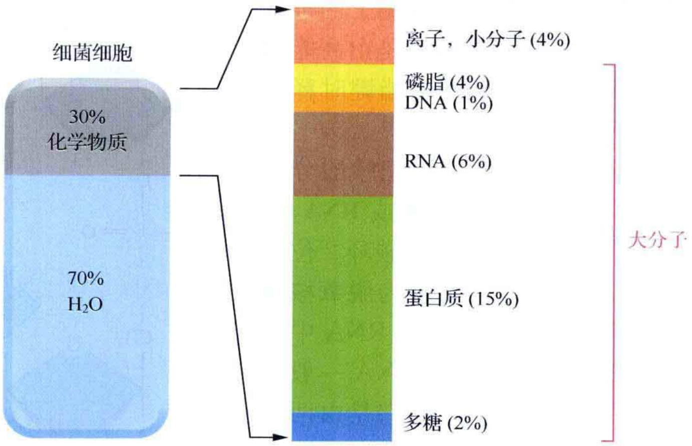


图 2-26 细胞内富含大分子。图示为一个细菌细胞的化学组分。一个动物细胞的化学组分与之大致相同。

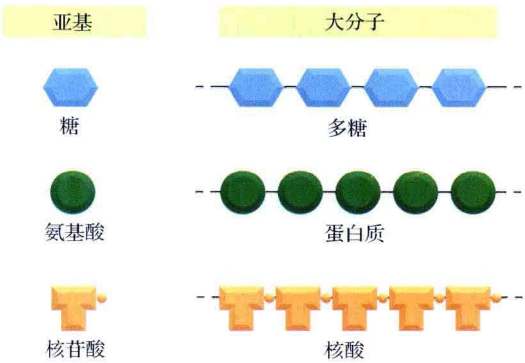


图 2-27 多糖、蛋白质和核酸都由单个亚基组成。每个大分子都是由小分子(称为单体或亚基)经共价键相连而成的聚合物。

2.3.1 大分子的亚基排列具有特定的序列

就蛋白质、核酸和多糖而言,虽然向每个聚合物上添加亚基的化学反应各不相同,但它们都遵从共同的重要特征。通过缩合反应,在每个聚合物的末端加上一个单体,同时产生一分子水(图 2-17,图 2-28)。所有这些情形中的化学反应都是由酶催化的,它保证只有类型合适的单体才能参与这些反应。

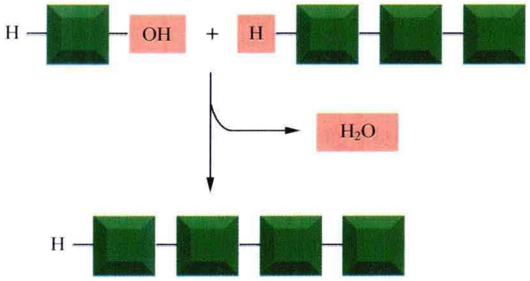


图 2-28 大分子的形成需要在长链的一端逐个加入单体。在缩合反应中,生长的烃链的一端每加上一个单体,就会同时失去一分子水。逆反应——所有聚合物的分解过程——通过加水而进行(水解反应)。

由单体逐步聚合形成长链是制造一个巨大而又复杂的分子的捷径。这是因为亚基是通过相同的反应、利用同一组酶一次次地加到聚合物上的。就某种意义而言,这个过程类似于工厂中一台机器的重复操作,当然也有一些重要的区别。首先,除了某些多糖之外,绝大多数的大分子是由相互间细微差异的一组单体组成。例如,由 20 种不同氨基酸组成的蛋白质(图版 2-5)。其次,最重要的是这种聚合物的长链不是由这些

亚基随机组装而成的，而是具有特定的次序或**序列**。

细胞内确定聚合物序列的机制将在第 6 章和第 7 章中加以讨论。这些机制是生物学的核心，因为蛋白质、核酸和多糖的生物学功能都完全依赖于线性长链中亚基的特定序列。亚基序列的多种可能性导致聚合物分子的多样性。因此，对于一条含有 200 个氨基酸的蛋白质长链来说，有 20^{200} 种可能的排列组合（20×20×20…，乘 200 次）。而一个含 10 000 个核苷酸的 DNA 分子有 $4^{10\,000}$ 个不同的可能性，这是一个难以想象的巨大数字。因此，发生聚合反应的机制必须受到严格的控制，以精确地确定下一步哪个亚基应当添加到正在延伸的聚合物长链末端上。

我们如何得知：什么是大分子？

蛋白质、多糖和核酸都是由逐个连接成长链的小分子亚基组成的大分子，这种观点目前看来可能是显而易见的，但情况并非总是如此。在 20 世纪初期，几乎没有科学家相信存在着这样一类大分子，即由重复性结构单元组成并由共价键连接而成的多聚体。那种认为这些“超级巨大的”化合物有可能是由简单的结构单元所组成的观点被当时的化学家们认为是“令人极为震惊的”。相反，他们认为蛋白质以及其他看起来较大的分子只不过是不同种类的小分子通过弱“联合力”连接而成的（图 2-29）。

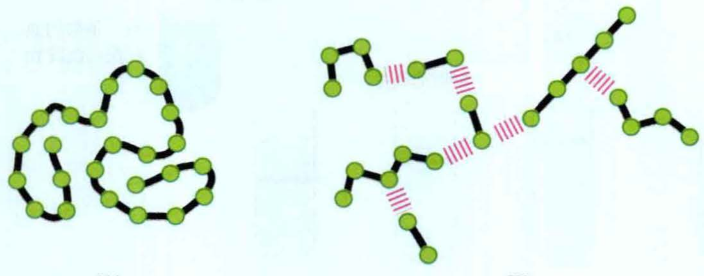


图 2-29　大分子看上去像什么？在 20 世纪早期，化学家们争论蛋白质、多糖和其他大分子是(A)大量原子共价连接而成的单个颗粒，还是(B)不均一的小分子依靠弱作用力构成的松散的集合。

蛋白质和其他多聚体分子量很大，这一线索最初源自对它们在溶液中行为的观察。当时，科学家们着力于研究各种各样的蛋白质和糖类，它们来源于食物和天然物质，例如，蛋清中的白蛋白、牛奶中的酪蛋白、明胶中的胶原以及木材中的纤维素。这些物质的化学成分看上去很简单，与其他的有机分子一样具有碳、氢、氧。如果含有蛋白质的话，还具有氮元素。但是它们在溶液里具有奇特的分子行为，如不能通过较细的滤膜。

为什么这些分子在溶液中具有这样的行为实在是个谜。难道因为它们是由无数原子共价连接而成的大分子吗？或者因为它们更像是微粒的胶态溶液——一种分子排列松散的黏稠溶液？

有一种方法能区别这两种可能性，就是要确定这些分子的真实大小。如果一种类似于血清白蛋白的物质由同样大小的分子组成，那就可能存在真正意义上的大分子。反之，如果白蛋白是各种多肽的混合物，那么它们在溶液中的分子大小具有一个很广的范围。

不过遗憾的是在 20 世纪早期，科学家们并不具备能精确测定分子大小的理想方法。有些化学家通过蛋白能把溶液凝固温度（冰点）降低多少来估计它的分子大小；另一些人则通过测量蛋白溶液的渗透压。这些方法很容易受实验误差的影响，从而产生多变的实验结果。例如，通过不同的技术估算纤维素的质量，得到的结果为 6000～103 000 Da（一个氢原子的质量约为 1 Da）。这些误差导致蛋白质和糖类是宽松而不牢固的集合体而不是大分子的假说愈演愈烈。

有机化学家能够合成的最大化合物为 4000 Da，而存在的大分子普遍超过 4000 Da，这令许多科学家难以置信。以红细胞内氧分子的运输蛋白为例，研究人员试图通过分解血红蛋白的化学成分来估计它的大小。除了碳、氢、氮和氧元素之外，血红蛋白还含有少量的铁离子。根据构成百分比估算，血红蛋白中每 712 个碳原子对应于 1 个铁原子，分子质量至少为 16 700 Da。在细胞内，一条长链上含有数百个碳原子的大分子仍然

能够完整地保持特定的功能吗？有机化学家埃米尔·费歇尔(Emil Fischer)曾发现蛋白质中的氨基酸是通过肽键连接起来的，他认为一条多肽链最多不能超过30个或40个氨基酸。而血红蛋白拥有700多个碳原子，形成超乎想象的分子长链。这对主流化学家们来说，无疑是天方夜谭。

解决这一争论的最终方法依赖于新技术的发展。利用离心力可将物质按其分子大小分离开来。根据该原理制造的超速离心机为证明蛋白质是大分子提供了令人信服的证据(图2-30，参见图版4-4)。早在1925年，特奥多尔·斯维德伯格(Theodor Svedberg)就研制出第一台超速离心机，并开展了第一次相关的研究。如果蛋白质由许多小分子组成，他推断超速离心后的沉淀物里有大小不同的一系列分子。斯维德伯格将血红蛋白作为第一个研究目标，发现离心后的样品出现了分子质量为68 000 Da的单一条带。他的研究结果强烈地支持了关于蛋白质是真正意义上的生物大分子的理论。

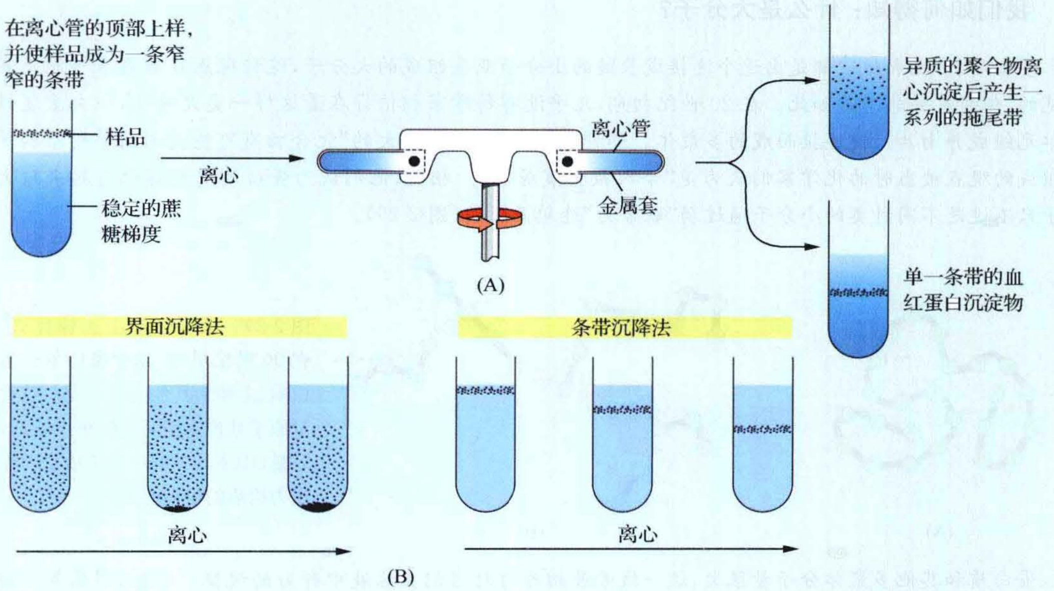


图2-30 超速离心机帮助解决了有关大分子的争论。超速离心机中的离心力超过重力500 000倍，可以用来分离蛋白质和其他大分子。(A)在超速离心机中，样品放在连续密度梯度的蔗糖溶液上。位于金属转子四周的离心管高速旋转。由于不同大小的分子具有不同的沉降系数，因此通过离心后，这些分子在离心管里形成特定的条带。如果血红蛋白是由不同多肽组成的松散的聚合物，那么离心后就会产生一系列大小的拖尾带。相反，离心后出现分子质量为68 000 Da的单一条带。尽管目前超速离心机是绝大多数生化实验室的常见设备，但它的制造工艺在技术上却颇具挑战性。离心机的转子必须耐受在特定温度下长时间的高速旋转，否则沉淀物会产生对流而导致实验失败。斯维德伯格因为发明超速离心机并应用于化学研究而获得1926年的诺贝尔化学奖。(B)在他的实验中，斯维德伯格在一个特殊的管子里装满混匀的血红蛋白溶液；透过光线，他仔细地检测蛋白沉淀分子和上清液之间的交界面(称为界面沉降法)。图(A)中显示的是后来发展的“条带沉降法”。

20世纪30年代，其他方面的研究证据陆续出现。当时，研究人员开始通过X射线衍射的方法来研究蛋白质的晶体结构。只有当某个分子具有均匀的形状和大小时才能形成高度有序的晶体，从而通过X射线衍射来测定它的三维结构(详见第4章)，而不均匀的混合物不能用这种方法来研究。

现在，我们认为活细胞内的生物大分子发挥了最为重要的功能。不过，当年的化学家也曾怀疑过是不是一定存在这类大分子，就像动物学家被告知在非洲的某个地方有100 m长20 m高的大象那样令人疑惑。这让研究人员花费了数十年的时间来掌握相关的技术，并使人相信每个生物分子要比他们以前遇到过的任何东西大10倍，这是生物学上的一个里程碑。在本书中，我们还能看到这样探索发现的历程是常见的，而技术的发展常常是推动科学进步的动力。

2.3.2 非共价键确定一个大分子的精确形状

一个大分子中大多数的单键允许相连的两个原子发生转动，因此这种聚合物的长链具有很大的灵活性。原则上，这使一个大分子具有几乎无限多种形状或**构象**，因为在随机的热能影响下，聚合物长链会发生扭动和转动。然而，大部分生物大分子的形状受到诸多约束，这是因为一个分子的不同部位之间形成了较弱的**非共价键**。如果形成的弱键数量足够多，那么聚合物长链就会根据单体的线性序列而形成某个特定的构象。细胞中大多数的蛋白质分子和 RNA 分子均以这种方式折叠形成相应的构象(图 2-31)。这些通过自然选择后形成的独特构象决定了大分子的化学活性，也确定了它们和其他分子之间的相互作用。

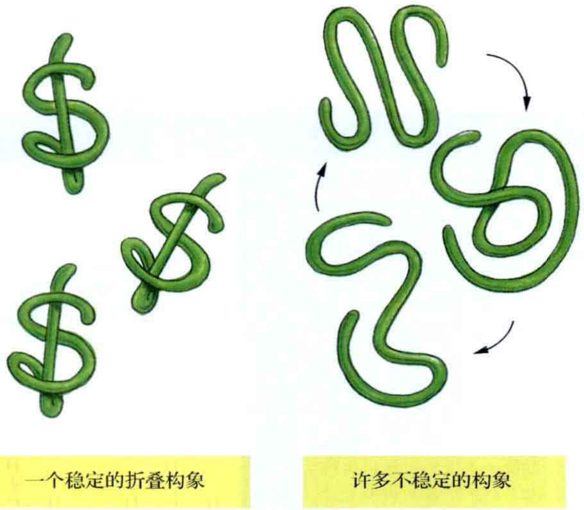


图 2-31　大多数蛋白质和许多 RNA 分子折叠形成一种特殊而稳定的三维构象。如果维持这个稳定结构的弱键被破坏，那么这个分子就会变成一条柔顺的长链而失去原有的生物学活性。

在本章的前半节我们提到，生物分子有两类重要的非共价键——静电吸引力和氢键(图版 2-7)。尽管静电吸引力是较强的力，但在水相中这种吸引力相当微弱。这是因为带电基团或部分带电的极性基团被水分子或水溶液的其他盐离子屏蔽了。然而，静电吸引力在生物系统中非常重要。一个酶分子通常通过其带负电荷的氨基酸链结合到带正电荷的底物的适当区域。我们已经介绍了氢键在形成水的特性上的重要性。构成 DNA 双螺旋的两条单链也是通过氢键结合在一起的。当细胞需要复制它的遗传物质的时候，由于单个氢键的作用力很弱，酶分子可以轻易地拉开 DNA 双链。

第三种类型的弱键由范德华力形成，它是一种电荷吸引力的形式。当两个原子相互间靠得很近时，电荷间的相互扰动产生这种相互作用。尽管范德华力要比氢键弱，但是在不同形状的大分子之间的相互吸引上发挥着重要的作用。图版 2-7 综述了所有这些非共价键作用力。

另一种重要的非共价键作用力是由水的三维结构产生的，它促使水分子的疏水基团聚在一起，而使水分子的氢键网络所受到的破坏程度降到最低(图版 2-7，图版 2-2)。水溶液的这种排斥作用产生第四种弱的非共价键，称为疏水性相互作用。这种相互作用促使磷脂分子聚集在细胞膜上，也使得大多数蛋白质分子形成一种紧密的球状物。

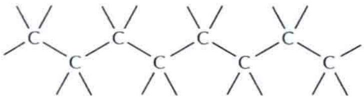
2.3.3 非共价键使一个大分子结合另一些特定的分子

虽然单个的非共价键强度很弱，但是当分子之间距离很近时，非共价键叠加起来就可以形成一种强大的吸引力。就像一只手被套在手套中那样，分子之间能形成许多的非共价键(图版 2-7)。这种分子间的相互作用方式保证了大分子和其他分子之间相互作用的高度专一性，因为多个接触点使一个大分子有可能通过相互作用从细胞内的几千种不同分子中选出一种与其牢

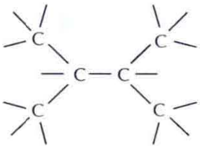
图版2-1 化学键和化学基团

碳骨架

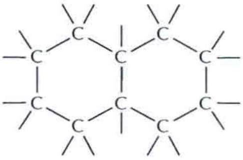
细胞里的碳原子具有独特的作用，这是因为它和别的碳原子形成了牢固的共价键。因此，碳原子能连接形成长链。

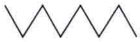


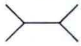
或有分枝的树形结构

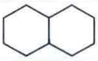


或环形结构



也写为 

也写为 

也写为 

共价键

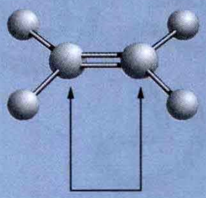
当两个原子相互靠近并共享一个或多个电子时，就形成了共价键。

在一个确定的空间排列中，每个原子形成的共价键的数目是确定的。

单键：每个键共享两个电子

双键：每个键共享四个电子

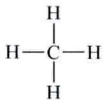
共价键精确的空间排列影响分子的三维结构和它们的化学性质。在本图版中，我们可以看到共价键是如何被各种各样的生物分子所利用的。



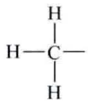
由两个或多个共价键相连的原子不能沿键轴自由转动。这个限制对许多大分子的三维结构造成了很大的影响。

C—H化合物

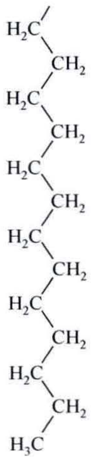
由碳原子和氢原子组成的稳定化合物(或基团)称为烃。烃是非极性的，不能形成氢键，一般不溶于水。



甲烷



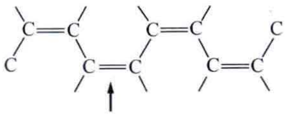
甲基



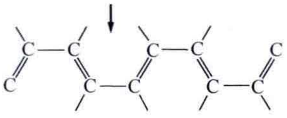
一个脂肪酸分子的烃“尾”部分

更迭双键

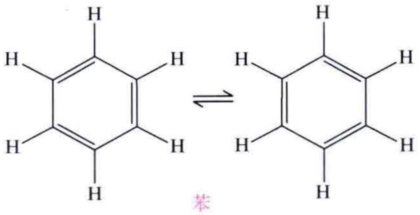
碳链可以包含双键。如果这些双键和单键交替出现在碳原子上，成键电子就可以在分子中移动，通过共振现象稳定空间结构。



实际情况大约介于这两种结构之间



碳环中的更迭双键产生一种非常稳定的结构。



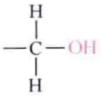
苯

也写为

C—O化合物

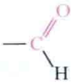
许多化合物含有一个与氧原子结合的碳原子。例如，

醇

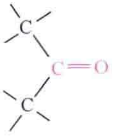


—OH称为羟基。

醛

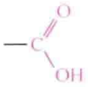


酮



C═O称为羰基。

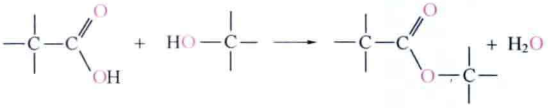
羧酸



—COOH称为羧基。在水中，羧基失去一个H^+成为—COO^-。

酯

酸和醇反应形成酯。

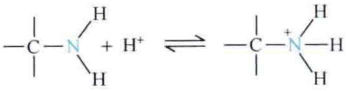


酸　　醇　　酯

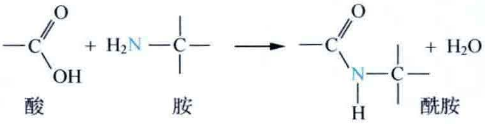
C—N化合物

一些化合物含有与氮原子相连的碳原子，胺和酰胺就是两个很好的范例。

在水中，胺结合一个H^+而带正电荷。



酸和胺结合形成酰胺。与胺不同的是，酰胺在水中不带电荷。肽键就是一个例子，在蛋白质中肽键连接着氨基酸。



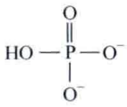
酸　　胺　　酰胺

氮原子也出现在一些环状化合物中，这包括核酸的重要组分：嘌呤和嘧啶。

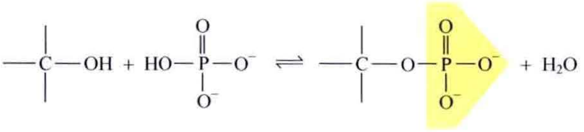
胞嘧啶(一种嘧啶)

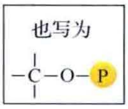
磷酸盐

无机磷酸盐是一种由磷酸H_3PO_4形成的稳定离子，常写作Pi。

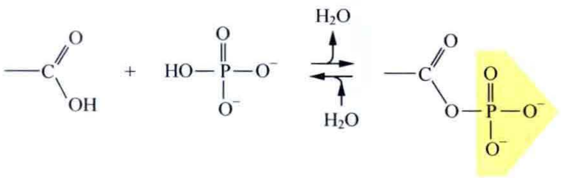


磷酸盐和游离态的羟基结合形成磷酸酯。磷酸基常通过这种方式连接到蛋白质上。

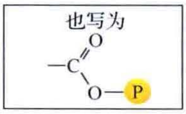


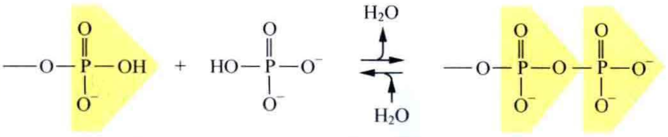


一个磷酸基和一个羧基或数个磷酸基结合，产生酸酐。



出现在一些代谢产物中的高能酰基磷酸键(羧基磷酸酐)。

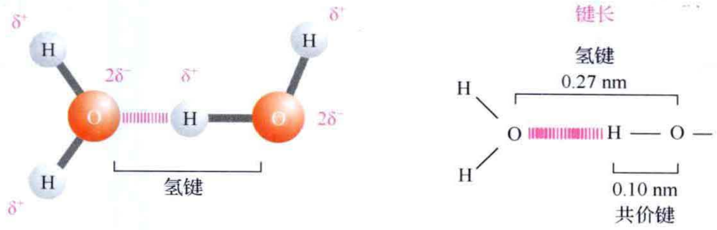




磷酸酐：ATP分子里含有这种高能键。

氢键

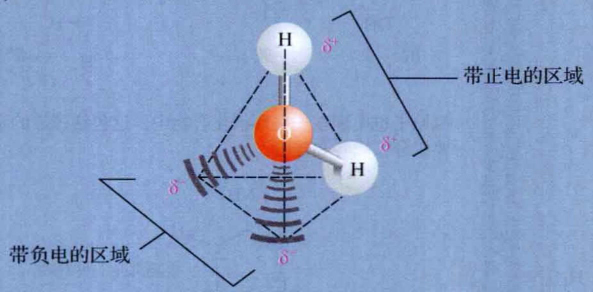
由于水分子是极性的，故两个相邻的水分子可形成氢键。氢键的强度只有共价键的1/20。



当三个原子位于一条直线时，氢键最强。

水

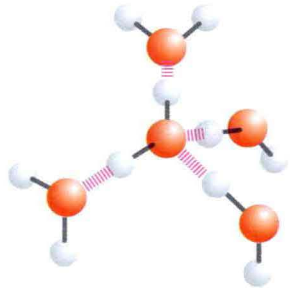
通过共价键连接的两个原子可能会对成键电子产生不同程度的吸引作用。在这种情况下，这个共价键是极性的，它的一端略显负电性(δ⁻)，而另一端略显正电性(δ⁺)。



尽管水分子总体上是电中性的(有相同个数的电子和质子)，但电子的分布是不对称的，这造成了水分子的极性。氧原子核强烈吸引电子并拉离氢原子核，这使得氢原子核带有少量的正电荷。氧原子里过量的电子密度形成一个负电荷区，它位于氢、氧原子构成的四面体的两个角上。在这几页里，我们将回顾水分子的化学性质，了解水分子是如何影响生物分子的行为的。

水的结构

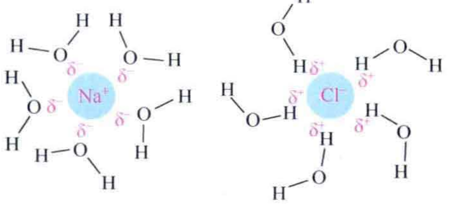
在氢键矩阵中，水分子瞬时地连接在一起。



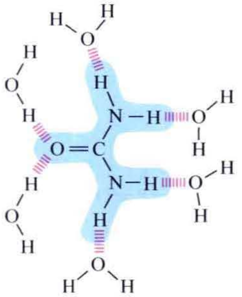
水分子的凝聚特性使它拥有许多不同寻常的性质，例如，高表面张力、高比热容和高蒸发热。

亲水分子

易溶于水的物质称为亲水分子。它们是离子或极性分子，通过电荷效应吸引水分子。在固体物质的表面上，水分子包围了每个离子或极性分子，并把它们带入水溶液中。



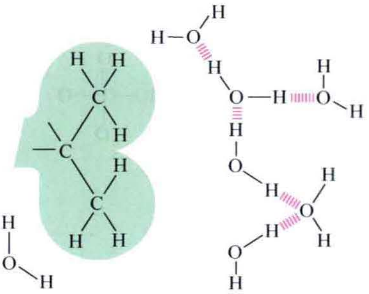
以氯化钠为例，离子易溶于水是因为水分子被离子的正电荷(Na^+)或负电荷(Cl^-)所吸引了。



以尿素为例，极性物质易溶于水是因为这些分子与周围的水分子形成了氢键。

疏水分子

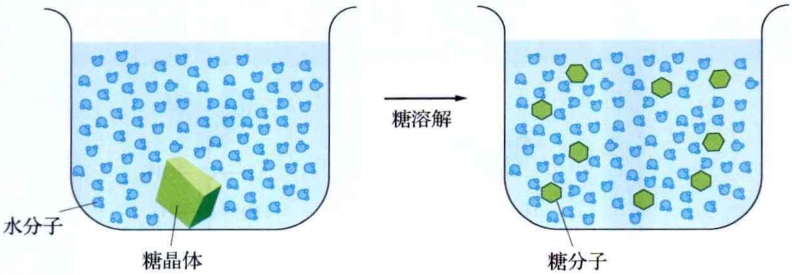
非极性键占优势的物质通常不溶于水，它们被称为疏水分子。这类分子不能吸引水分子，因而水分子就不能包围它们并将它们带入水溶液中。



烃就是典型的疏水性物质，它含有很多C—H键。

水作为一种溶剂

许多物质，如日常食用的糖类，是可溶于水的。那是因为它们的分子可互相分离，每个分子都被水分子包围。



当一种物质溶解在一种液体中时，这种混合物称为溶液。被溶解的物质(在这个例子中是糖)是溶质，而起溶解作用的液体(在这个例子中是水)是溶剂。对于许多物质来说，正是由于水的极性键才使水成为一种非常好的溶剂。

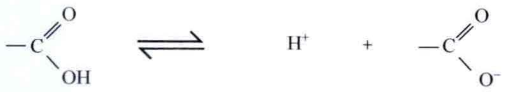
酸

能在溶液中释放氢离子的物质称为酸。

$$HCl \longrightarrow H^{-} + Cl^{-}$$

HCl 盐酸 (强酸) → H⁻ 氢离子 + Cl⁻ 氯离子

细胞里许多重要的酸都是不完全解离的，因而它们被称为弱酸。例如，羧基(—COOH)，在溶液里发生解离并提供一个氢离子。

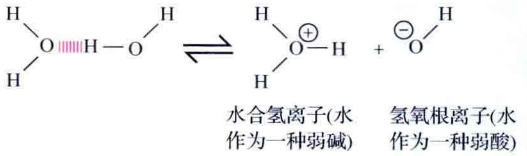


(弱酸)

注意这是一个可逆反应。

氢离子交换

带正电荷的氢离子(H^+)能够自发地从一个水分子转移到另一个水分子上，从而产生两种离子。



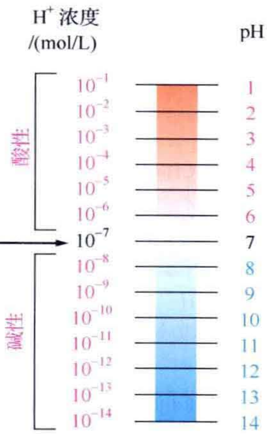
常写为：$H_2O \rightleftharpoons H^+ + OH^-$

氢离子　氢氧根离子

由于这个过程是快速且可逆的，因此氢离子不断地在水分子之间穿梭。纯水的氢离子和氢氧根离子的浓度均达到稳定状态(二者均为10^{-7} mol/L)。

pH

一个溶液的酸度定义为它具有的水合氢离子(通常缩写为H^+)的浓度。为方便起见，我们采用pH标度，$pH=-\log_{10}[H^+]$。



对纯水而言 $[H^+]=10^{-7}$mol/L，即 pH=7.0。

碱

减少溶液中氢离子数量的物质称为碱。有些碱就可以直接结合氢离子，例如，氨。

$$NH_3 + H^+ \longrightarrow NH_4^+$$

氨　氢离子　铵离子

还有些碱可以间接地减少氢离子的数量。如氢氧化钠，它产生的OH^-能直接结合H^+并产生水。

$$NaOH \longrightarrow Na^+ + OH^-$$

氢氧化钠(强碱)　钠离子　氢氧根离子

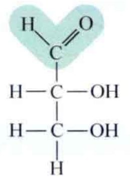
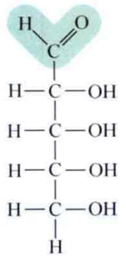
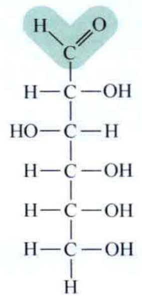
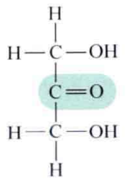
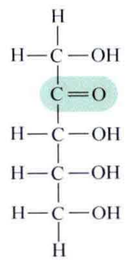
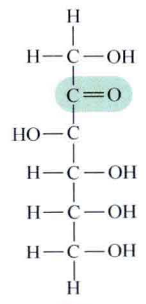
细胞里许多碱都能部分地结合H^+，因而它们被称为弱碱。含有氨基(—NH_2)的化合物就是这样，它们从水中接受一个H^+，增加了游离态OH^-的数量。

$$-NH_2 + H^+ \rightleftharpoons -NH_3^+$$

图版2-3 几种糖的类型概述

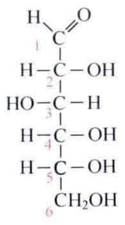
单糖

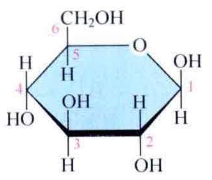
单糖的通用分子式是$(CH_2O)_n$，n可以是3、4、5或6，而且可以有两个或者更多的羟基。含有一个醛基（$-C\overset{O}{\underset{H}{\lessgtr}}$）的单糖称为醛糖，含有一个酮基（$>C=O$）的单糖称为酮糖。

	3-碳(丙糖)	5-碳(戊糖)	6-碳(己糖)
醛糖	 甘油醛	 核糖	 葡萄糖
酮糖	 二羟丙酮	 核酮糖	 果糖

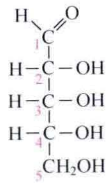
环的形成

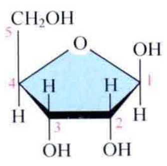
在水溶液中，一个糖分子的醛基或酮基倾向于和这个分子的羟基发生反应，因而使分子闭合形成一个环。





葡萄糖



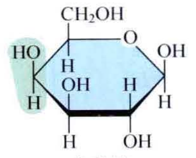


核糖

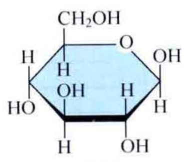
注意每个碳原子都有一个编号。

异构体

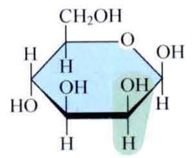
许多单糖的区别在于原子的空间排列，它们互为异构体。例如，葡萄糖、半乳糖和甘露糖均有相同的分子式$(C_6H_{12}O_6)$，但其中一个或两个碳原子周围的基团排列有所不同。



半乳糖



葡萄糖

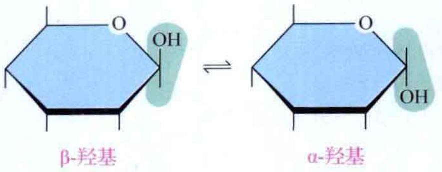


甘露糖

这些细小的差别使这些糖的化学性质产生了细微的改变，但它们仍能被酶或其他蛋白所识别，因而具有重要的生物学效应。

α和β连接

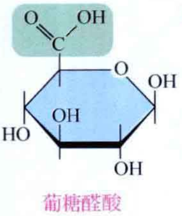
带有醛基或酮基的碳原子上的羟基可以从一个位置快速地转换到另一个位置。这两个位置分别称为α和β。

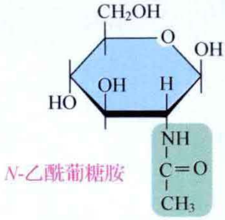


一个糖分子一旦连到另一个糖分子上，α和β的位置也就被固定下来了。

糖衍生物

一个单糖的羟基可以被其他基团取代。例如，





二糖

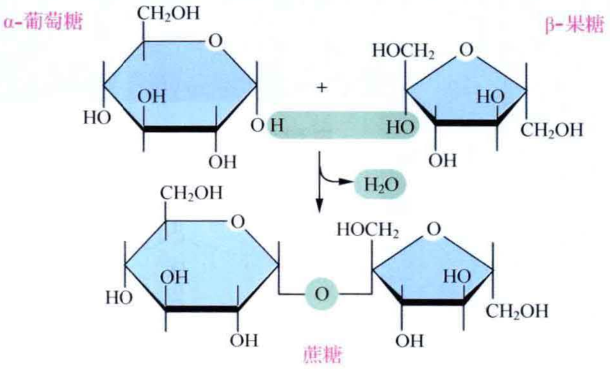
带有醛基或酮基的碳原子可以和第二个糖分子上的任何羟基发生反应，进而形成一个二糖。三种常见的二糖是：

麦芽糖(葡萄糖+葡萄糖)

乳糖(半乳糖+葡萄糖)

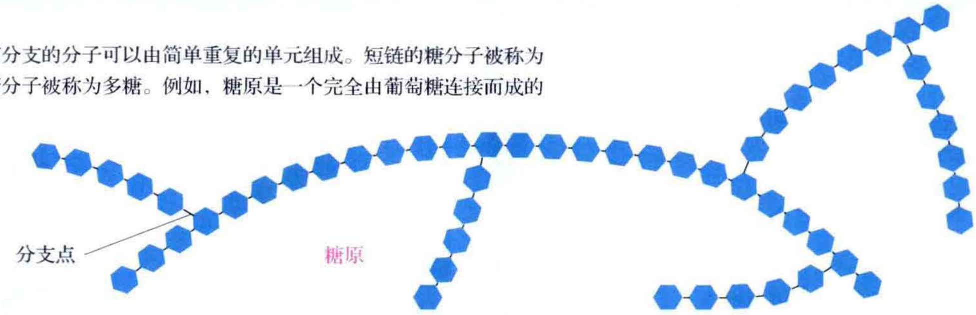
蔗糖(葡萄糖+果糖)

这里列出了生成蔗糖的化学反应。



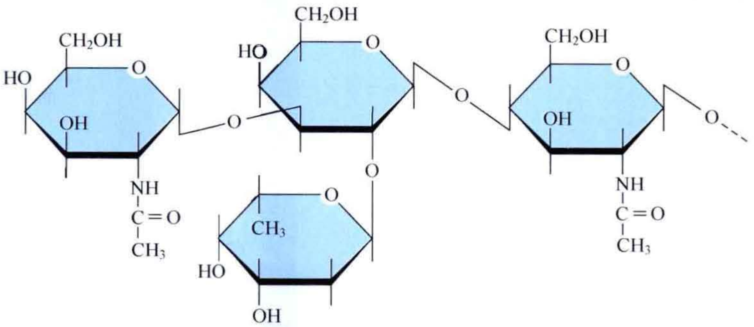
寡糖和多糖

线性大分子或带有分支的分子可以由简单重复的单元组成。短链的糖分子被称为寡糖，而长链的糖分子被称为多糖。例如，糖原是一个完全由葡萄糖连接而成的多糖。



复杂寡糖

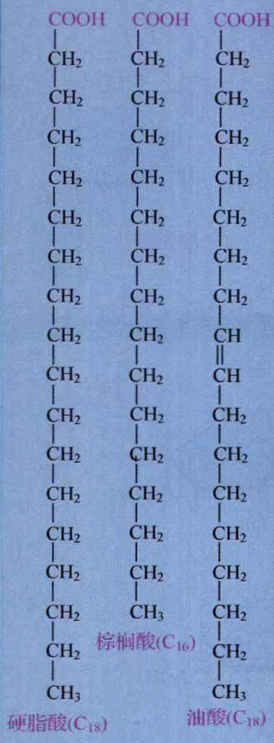
在很多情况下，一个糖分子的序列是不重复的，因而可能有许多不同的糖分子。这类复杂的寡糖通常连接到蛋白质或脂类上，成为细胞表面分子的一部分。也就是这些寡糖分子赋予了每个动物一个特定的血型。



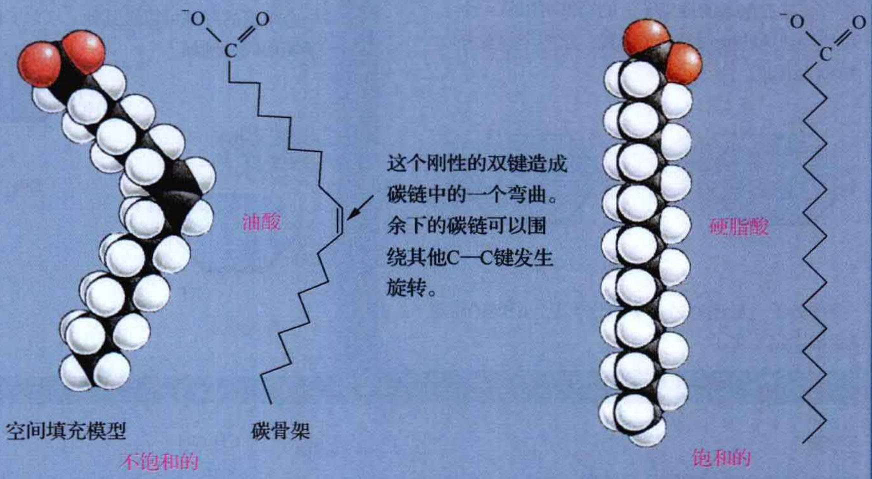
图版2-4 脂肪酸和其他脂类

脂肪酸

所有的脂肪酸的羧基都连有长烃链尾部。

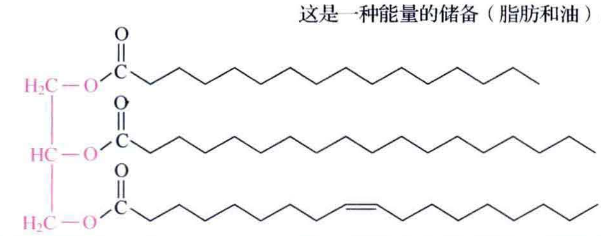


脂肪酸有几百个不同的种类。烃链尾部含有一个或多个氢键的脂肪酸是不饱和的。不含有双键的脂肪酸是饱和的。



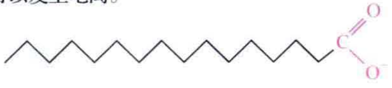
三酰甘油

脂肪酸通过酯键连接甘油并形成三酰甘油，这是一种能量的储备（脂肪和油）。

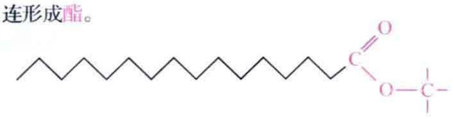


羧基

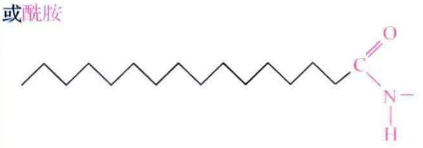
如果是游离态，则脂肪酸的羧基可以发生电离。



但更常见的是羧基与其他基团相连形成酯。

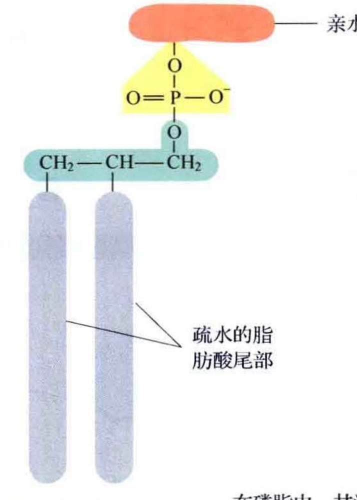


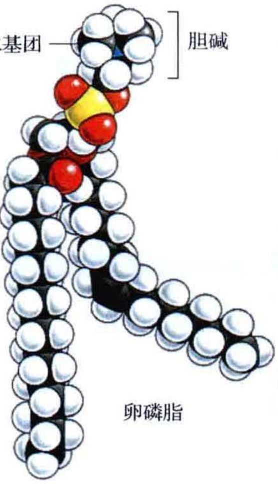
或酰胺



磷脂

磷脂是细胞膜的主要组成部分。

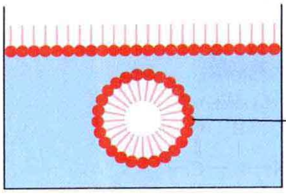




在磷脂中，甘油的两个—OH基团与脂肪酸相连，而第三个—OH基团与磷酸相连。这个磷酸再与各种小的极性基团(如醇类)相连。

脂质聚集体

脂肪酸有一个亲水的头部和一个疏水的尾部

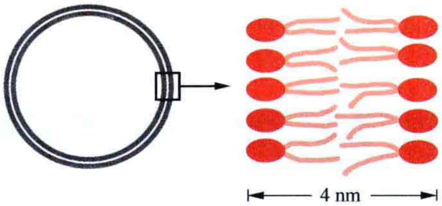


在水中，它们可以形成一层表面膜或微小的分子团

它们的衍生物可以通过疏水作用力形成更大的聚集体。

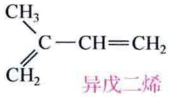
在细胞质中，三酰甘油形成很大的球形脂肪滴。

磷脂和糖脂形成自动封闭的脂双层，这是形成一切细胞膜的基础。



其他脂类

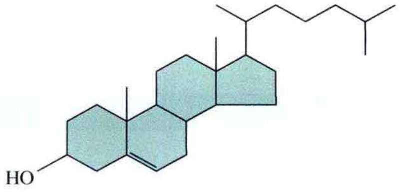
脂类定义为在细胞中不溶于水而溶于有机溶剂的分子。另外两种常见的脂类分别是类固醇和聚类异戊二烯。两者均是异戊二烯组成的。



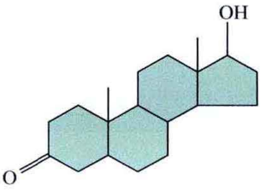
异戊二烯

类固醇

类固醇通常含有一个多环结构。



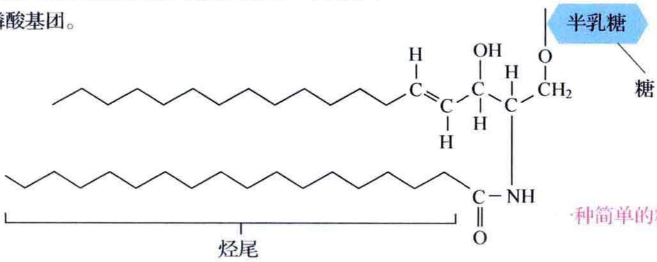
胆固醇——出现在许多膜中



睾酮——雄性类固醇激素

糖脂

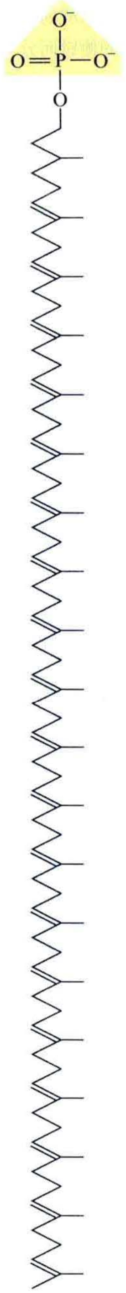
与磷脂类似，这些化合物是由一个疏水区和一个极性区组成。糖脂的疏水区包含两条长烃链尾部；极性区含有一个或多个糖基，而没有磷酸基团。



一种简单的糖脂

聚类异戊二烯

异戊二烯的长链聚合物。



多萜醇磷酸酯——在糖蛋白和一些多糖的合成过程中，用来携带活化的糖分子。

图版2-5 蛋白质里的20种氨基酸

氨基酸的家族

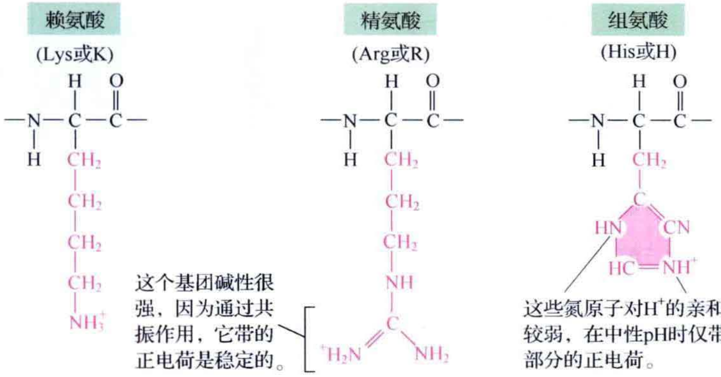
常见氨基酸的分类根据它们的侧链而分为

- 酸性的
- 碱性的
- 不带电荷而极性的
- 非极性的

这20种氨基酸可以缩写成三个英文字母或单个英文字母。

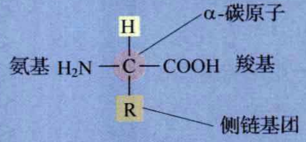
例如，丙氨酸=Ala=A。

碱性的侧链

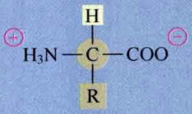


氨基酸

一个氨基酸的通式



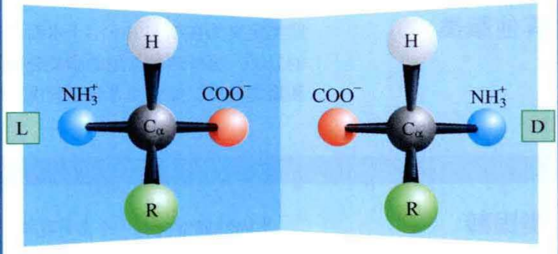
R通常是20种不同侧链中的一种。在pH=7时，氨基和羧基都是电离的。



这几页介绍了蛋白质中的氨基酸，并说明了它们是如何形成蛋白质的。

光学异构体

α-碳原子是不对称的，它可以形成两个镜像(或立体)异构体，即L-和D-型。

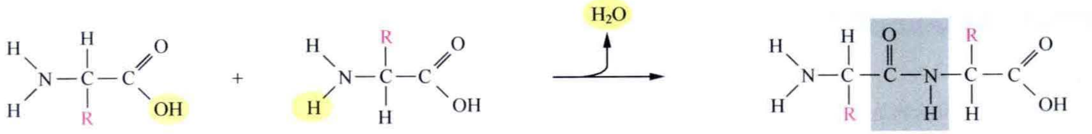


蛋白质只由L-型氨基酸组成。

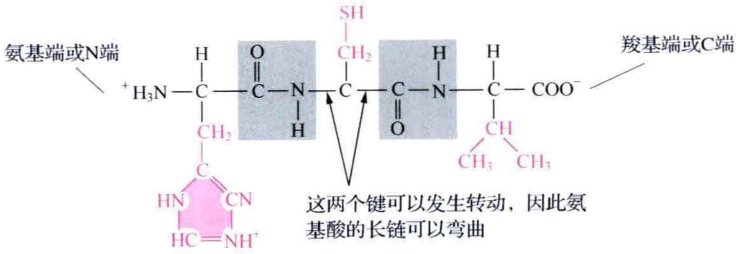
肽键

氨基酸一般通过酰胺键即肽键相连。

每个肽键(灰色方框标示)中的四个原子形成一个刚性的平面，并不能在C—N键之间发生转动。



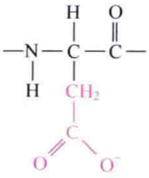
蛋白质是氨基酸经肽键相连而成的长聚合物，我们常把蛋白质的N端写在左边。以下是个三肽序列：组氨酸—半胱氨酸—缬氨酸。



酸性的侧链

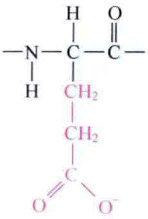
天冬氨酸

(Asp或D)



谷氨酸

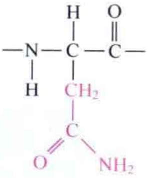
(Glu或E)



不带电荷的极性侧链

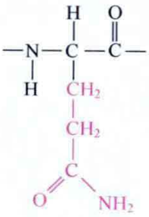
天冬酰胺

(Asn或N)



谷氨酰胺

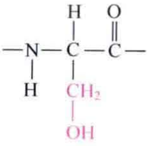
(Gln或Q)



在中性pH时，尽管酰胺的N不带电荷，但它是极性的。

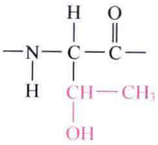
丝氨酸

(Ser或S)



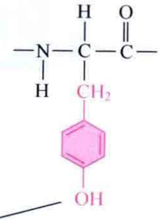
苏氨酸

(Thr或T)



酪氨酸

(Tyr或Y)

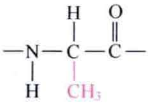


这个—OH基团是极性的

非极性的侧链

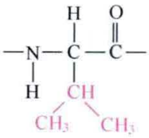
丙氨酸

(Ala或A)



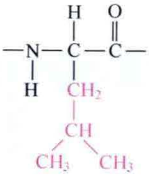
缬氨酸

(Val或V)



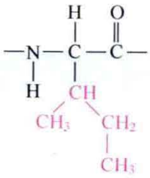
亮氨酸

(Leu或L)



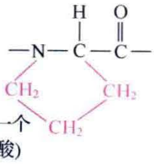
异亮氨酸

(Ile或I)



脯氨酸

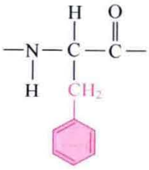
(Pro或P)



(其实是一个亚氨基酸)

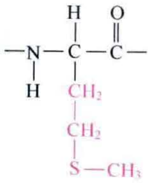
苯丙氨酸

(Phe或F)



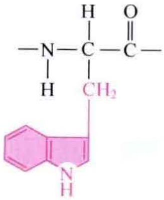
甲硫氨酸

(Met或M)



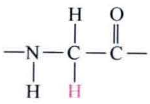
色氨酸

(Trp或W)



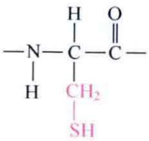
甘氨酸

(Gly或G)



半胱氨酸

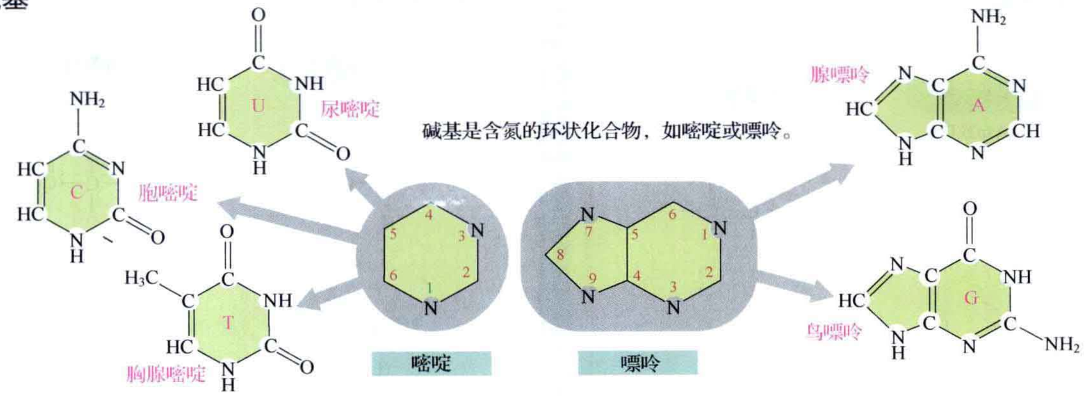
(Cys或C)



蛋白质中两个半胱氨酸之间可以形成二硫键。

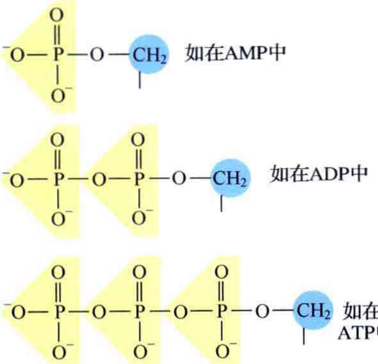
$- - CH_2 - S - S - CH_2 - -$

碱基



磷酸基

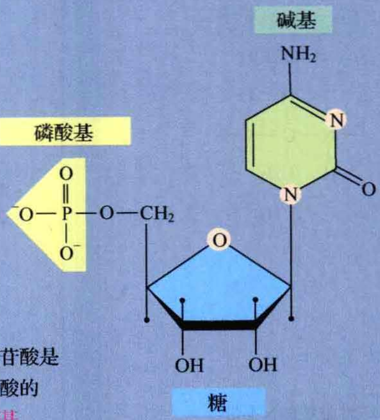
通常情况下，磷酸基与核糖或脱氧核糖的第5位碳原子上的羟基(标记为5′-羟基)相连。常见的有一磷酸基、二磷酸基和三磷酸基。



磷酸基使核苷酸带上负电荷。

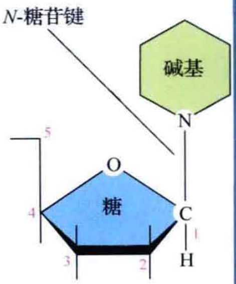
核苷酸

一个核苷酸由一个含氮的碱基、一个五碳糖和一个或多个磷酸基组成。



核苷酸是核酸的亚基。

碱基与糖的连接

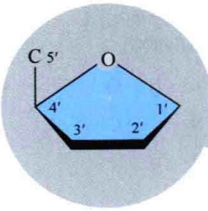


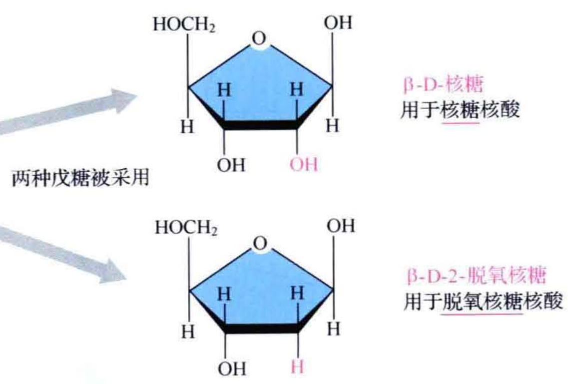
与糖分子间的成键情况一样，碱基也是连到同一个碳原子(C1)上的。

糖

戊糖

一种五碳糖





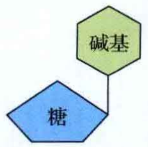
在一个核苷酸的五碳糖上，每个编号的碳原子都要加上一个撇号；因此，可读作“5撇碳原子”等。

命名法则

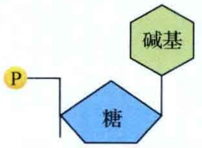
名称可能会混淆，但缩写符号很清楚。

碱基	核苷	缩写
腺嘌呤	腺苷	A
鸟嘌呤	鸟苷	G
胞嘧啶	胞苷	C
尿嘧啶	尿苷	U
胸腺嘧啶	胸苷	T

核苷酸可以缩写成三个大写字母，举例如下：
AMP=腺苷一磷酸
dAMP=脱氧腺苷一磷酸
UDP=鸟苷二磷酸
ATP=腺苷三磷酸



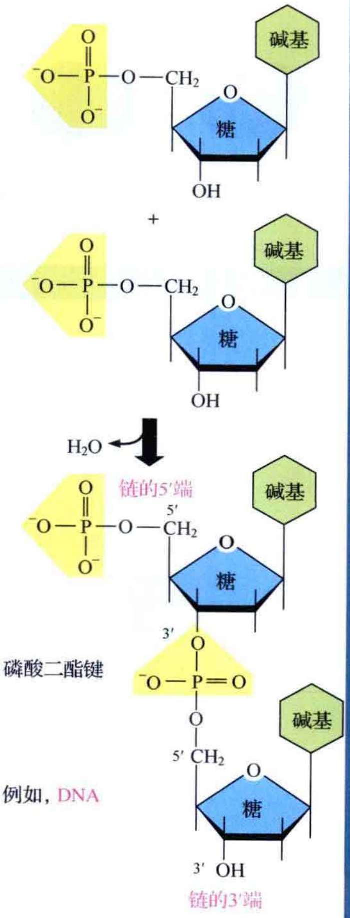
碱基 + 糖 = 核苷



碱基 + 糖 + 磷酸= 核苷酸

核酸

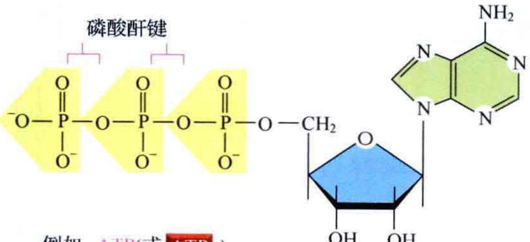
核苷酸通过5′和3′碳原子间的磷酸二酯键相连，进而形成核酸。在一条核酸链中，核苷酸的线性序列通常缩写成单个英文字母。例如，A—G—C—T—T—A—C—A，左侧为核酸长链的5′端。



例如，DNA

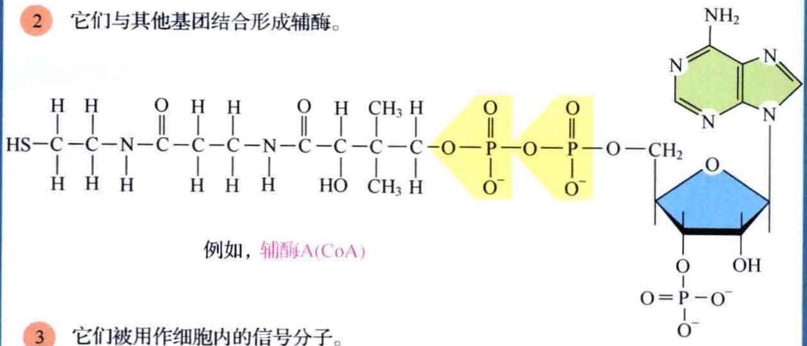
核苷酸有许多其他功能

1 在水解磷酸酐键时，核苷酸携带化学能。



例如，ATP(或 ATP)

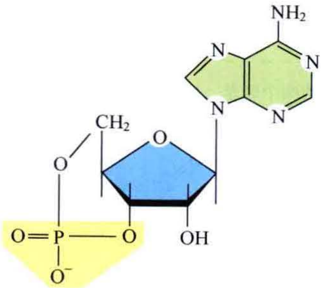
2 它们与其他基团结合形成辅酶。



例如，辅酶A(CoA)

3 它们被用作细胞内的信号分子。

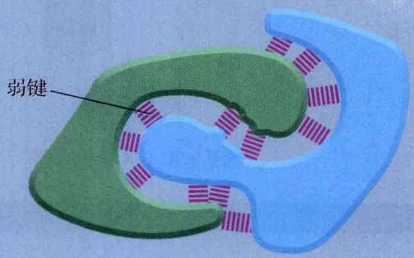
例如，环化腺苷酸(cAMP)



图版2-7 非共价键的主要类型

弱的化学键

有机分子能够通过三种类型的短程吸引力与其他分子发生相互作用，这三种类型的吸引力都是非共价键：范德华力、静电吸引力和氢键。疏水基团与水分子的排斥力对生物大分子的排列也是十分重要的。



弱化学键的强度小于强共价键的1/20。只有当许多弱的化学键同时形成时，分子间的结合才足够强烈和紧密。

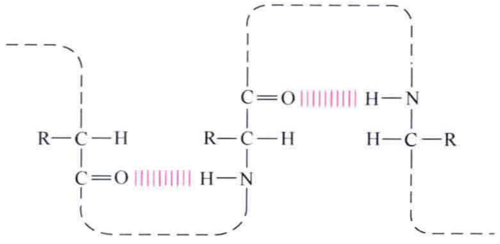
氢键

就像对水分子的描述那样(图版2-2)，当一个氢原子位于两个吸引电子的原子(通常为氧或氮原子)之间时，氢键形成。

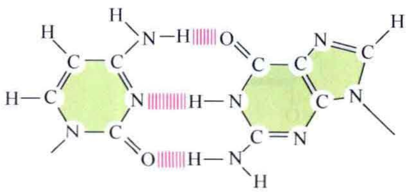
当三个原子位于一条直线上时，氢键最强。

以大分子为例：

多肽链中的氨基酸由氢键相连。

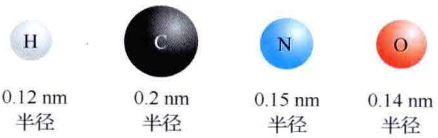


DNA或RNA中的两个碱基，G或C，由氢键相连。



范德华力

如果两个原子间的距离太近，就会产生强烈的相互排斥。正因为这个原因，我们可以把一个原子当作一个固定半径的球体。每个原子的特定“大小”由范德华半径确定。两个非共价键连接的原子之间的接触距离是它们范德华半径之和。

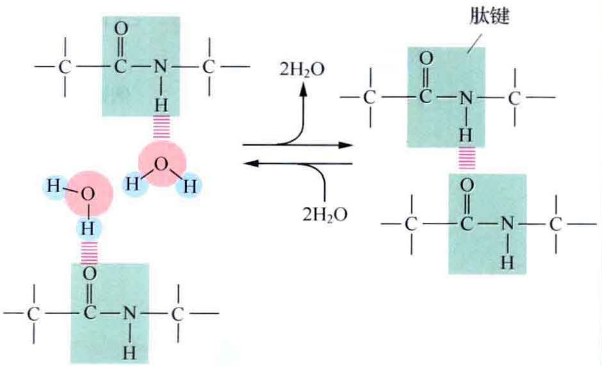


由于带有波动的电量，故任何两个原子相距很近时，均显示出很弱的结合作用力。两个电子用这种方式相互吸引，直到它们之间的距离近似等于它们的范德华半径之和。虽然它们本身很弱，但是当两个大分子表面相互接近时，范德华力就变得很重要了，因为有很多原子参与其中。

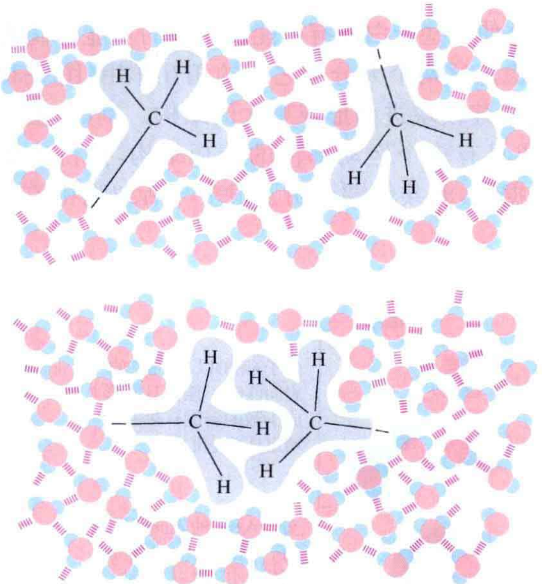
请注意：当两个原子形成一个共价键时，这两个原子的中心（原子核）要比两个范德华半径之和近很多。

水中的氢键

任何相互之间能够形成氢键的分子也能和水分子形成氢键。由于水分子的竞争，水溶液中两个分子之间的氢键相对较弱。



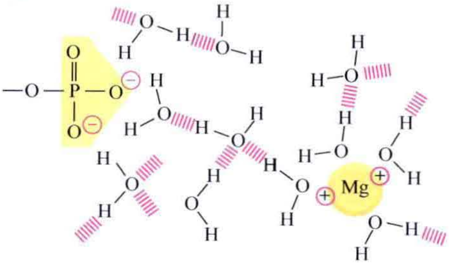
疏水力



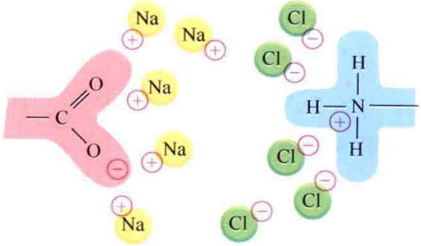
水促使疏水基团聚在一起，将疏水基团对氢键连接而成的水分子网络的破坏效应降至最低限度。疏水基团用这种方式聚集在一起，在有些时候被认为是靠“疏水力”维系在一起的，虽然这种吸引力实际上是由水分子的排斥力引起的。

静电吸引力

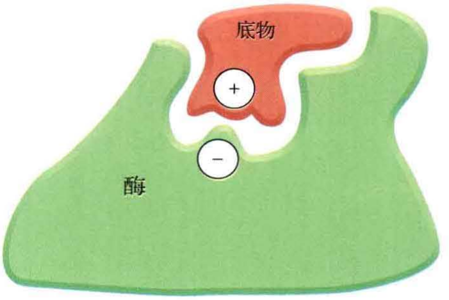
带电基团被它们和水分子的相互作用所屏蔽，因此在水中的静电吸引力很弱。



类似地，溶液中的离子能聚集在带电基团周围，静电吸引力被进一步削弱了。

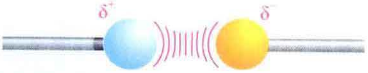


尽管静电吸引力被水和盐削弱了，但静电吸引力在生命系统中仍很重要。例如，酶与带正电荷的底物结合时，它的相应部位常常会有一个带负电荷的氨基酸侧链。



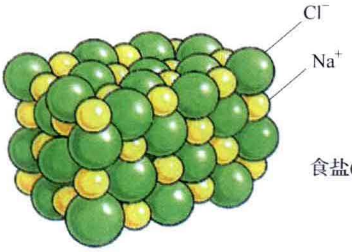
水溶液中的静电吸引力

带电基团之间(离子键)以及极性分子部分带电的基团之间存在着静电吸引作用。



两个电荷(δ^+和δ^-)之间的吸引力随着电荷之间距离的增加而迅速降低。

在没有水的环境里，静电吸引力很强。它们是大理石和玛瑙等矿物质强度和食盐晶体形成的主要原因。



食盐(NaCl)晶体

固结合的分子。此外，由于结合的强度依赖于所形成的非共价键的数目，因此分子之间几乎任何强度的相互作用都有可能发生。

这种类型的结合是一切生物催化反应的基础，这使一些蛋白质有可能发挥酶的功能。倘若两个不同的大分子的表面互相匹配，非共价键也能稳定这两个大分子之间的相互作用（图 2-32 和视频 2.4）。因此，这些非共价键使得大分子作为构建模块进而形成更大的结构。例如，蛋白质经常结合形成一个大的蛋白质复合物，从而形成具有多个运动部件的精巧结构，执行诸如 DNA 复制和蛋白质合成等的复杂任务（图 2-33）。据此，非共价键说明了很多与活细胞相关的生物特性。

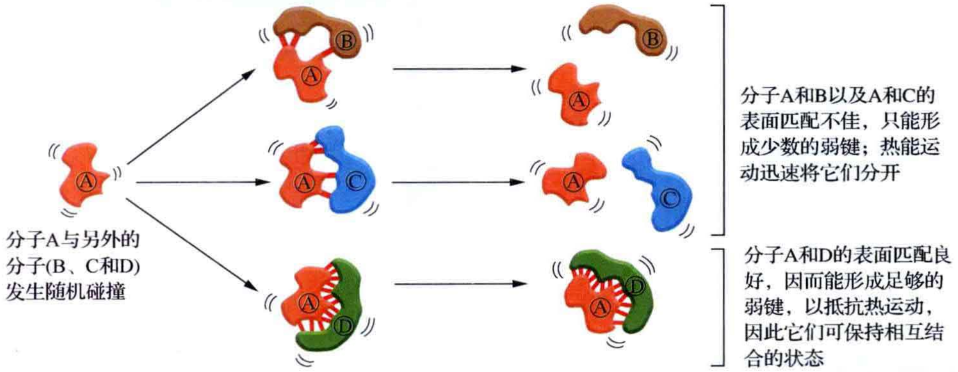


图 2-32　非共价键介导了大分子间的相互作用。

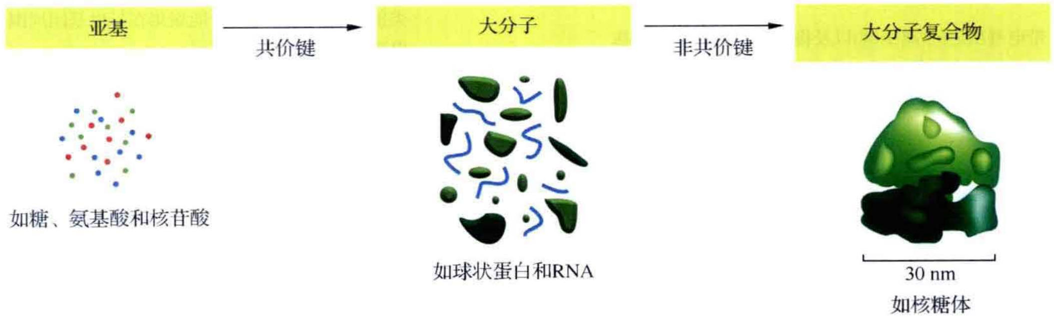


图 2-33　小分子结合起来形成大分子，进而形成更大的大分子复合物。亚基、蛋白质和核糖体均按比例绘制。核糖体是细胞用来制造蛋白质机器的一部分。每个核糖体大约由 90 个大分子（蛋白质和 RNA 分子）组成，可以在电子显微镜下观察（图 7-30）。

- 与非生物体一样，活细胞服从相同的化学和物理规律。就像物质的其他形式那样，生物由原子组成，原子是化学元素的最小单位，并保持该元素独特的化学性质。
- 原子由更小的粒子组成。一个原子的原子核含有质子和中子。质子带正电荷，中子不带电荷。原子核被负电荷的电子云包围。
- 一个原子的电子数等于其核内的质子数。同一元素的各种同位素的原子核含有相同数目的质子及不同数目的中子。
- 活细胞由有限的几种元素组成，其质量的 96.5%由 4 种元素(C、H、N 和 O)构成。
- 一个原子的化学性质由它所带电子的数目和排布所决定。当全部电子处于可能的最低能级并且每个电子层都被电子完全填满时，这个原子是最稳定的。
- 当电子移动并达到一种更稳定的分布状态时，原子之间就形成化学键。由化学键维系在一起的两个或更多个原子所构成的原子群称为分子。
- 当一个电子从一个原子跃迁至另一个原子时，即形成了两个带有相反电荷的离子，这些带电原子的互相吸引形成离子键。
- 当一对电子被相邻原子共用时，就形成了一个共价键。当两对电子被共用时，即形成了一个双键。
- 生物体含有独特且有限的一套有机小分子。这些有机分子在各种生物体内大致相同，主要种类有糖、脂肪酸、氨基酸以及核苷酸。
- 糖类是细胞的基本化学能源，可通过被合成为多糖而储存能量。
- 对于能量储存来说，脂肪酸也是很重要的。不过，它们最重要的功能是形成细胞膜。
  - 一个细胞干物质的绝大部分由大分子组成，如糖、氨基酸或者核苷酸形成的聚合物。
- 就大小和复杂性而言，大分子介于小分子与细胞器之间。它们有许多特殊的性质，很难根据组成它们的亚基来推导。
- 蛋白质是种类繁多、功能各异的大分子，它由氨基酸聚合而成。
- 核苷酸在能量转移中起核心作用，它也是构成信息大分子 RNA 和 DNA 的基本单位。
- 蛋白质、RNA 和 DNA 都是由亚基通过同样的缩合反应而形成的。每一种大分子都具有独特的亚基序列。
- 一个大分子的不同部位之间可以形成弱的非共价键。正如在蛋白质中那样，这些非共价键使得大分子折叠形成独特的三维形状和化学性质。

关键词

pH 标度	分子量	碱	水合氢离子	原子量
阿伏伽德罗常数	共价键	静电吸引	水解	脂肪酸
氨基酸	构象	聚合物	酸	质子
大分子	核苷酸	离子	缩合反应	
单体	核糖核酸(RNA)	离子键	糖	
蛋白质	化学基团	亲水的	脱氧核糖核酸(DNA)	
电子	化学键	氢键	序列	
非共价键	缓冲液	三磷酸腺苷(ATP)	亚基	
分子	极性	疏水的	原子	

问题

问题 2-1 3000 年前，一杯重达 18 g 或 1 mol 的水倒入爱琴海中。如果现在从太平洋里舀出一杯相同质量的水，请问这些海水中含有至少一分子"希腊"海水的概率是多少？假设海水已混合均匀，世界上海水的总量约为 $1.5\times10^9\ km^3$。

问题 2-2 一个碳原子含有 6 个质子和 6 个中子。请问：

A. 它的原子序数和原子量是多少？

B. 它有几个电子？

C. 需要额外增加几个电子才能填满其最外面的电子层？这将如何影响碳原子的化学性质？

D. 原子量为 14 的碳原子具有放射性。它与非放射性的碳原子在结构上有何差异？这种差异如何影响它的化学性质？

问题 2-3 讨论下列论述是否正确："从理论上来说，一个离子键可以被认为是一个极性很强的共价键。这样，所有的化学键便被归入到一个系列中。这个系列的一端为离子键，另一端为非极性共价键，极性共价键则落在这两端之间的某个位置上。"

问题 2-4 请指出下列陈述中有什么错误，并作相应解释："当 NaCl 溶于水时，与这些离子靠得最近的水分子会产生一定的位置偏向，即水分子中的氧原子朝向钠离子而背离氯离子。"

问题 2-5 A. 中性 pH(pH=7.0)的纯水中是否存在 H_3O^+？如果有，它们是如何形成的？

B. 若存在 H_3O^+，那么在中性 pH 时，H_3O^+ 与 H_2O 分子的比值是多少？(提示：水的分子量是 18，1 L 水的质量为 1 kg。)

问题 2-6 请仔细观察图 2-16D 中葡萄糖分子的空间填充模型。注意在图中有两种大小不同的氢原子。我们是否需要为画错了而道歉？试说明你的答案。

问题 2-7 为什么你认为用来合成蛋白质的只有 L-型氨基酸，而不是 L-型与 D-型氨基酸的混合物？

问题 2-8 一条多肽链的"极性"和一个化学键的"极性"的意义分别是什么？它们的含义有何区别？

问题 2-9 从理论上来说，有许多不同的化学方法可以将小分子连接起来形成聚合物。例如，小分子乙烯($CH_2=CH_2$)在商业上被用来制造塑料聚乙烯(…—CH_2—CH_2—CH_2—CH_2—CH_2—…)。然而，三类生物大分子的各个亚基都是通过相似的反应机制连接起来的，即缩合反应产生水。你能设想这种化学过程有哪些好处吗？为什么生物进化过程中会选择这个机制？

问题 2-10 为什么共价键没能代替非共价键来介导绝大多数大分子间的相互作用？

问题 2-11 下列哪些表述是正确的？并作相应的解释。

A. 一个原子核含有质子和中子。

B. 一个原子的电子比质子多。

C. 细胞核被一双层膜包围着。

D. 同一元素的所有原子都具有相同的中子数。

E. 中子的数目决定一个原子的原子核是否稳定或是否具有放射性。

F. 脂肪酸和多糖两者都是细胞中重要的能量储备。

G. 氢键较弱，且可被热能破坏，然而它们对大分子间相互作用的专一性起到重要作用。

问题 2-12 为了对原子的大小有个更为深刻的认识，我们假设印有本题的这页纸完全由纤维素组成。纤维素分子用化学式($C_nH_{2n}O_n$)表示，其中 n 可以是一个相当大的数字，并且各个分子的 n 值互不相同。碳、氢和氧的相对原子质量分别为 12、1 和 16，这页纸重 5 g。请问：

A. 这页纸中含有多少个碳原子？

B. 如果纤维素中的碳原子都是叠在另一个碳原子之上，那么构成这页纸的厚度需要堆叠多少个碳原子(假设这页纸的大小为 21 cm×27.5 cm，纸的厚度为 0.07 mm)。

C. 现在从另一不同的角度考虑这个问题。如果这页纸只由碳原子组成，一个碳原子直径为 2×10^{-10} m (0.2 nm)，那么需要多少个直径为 0.2 nm 的碳原子才能堆成这样厚的一页纸？

D. 试比较本题中 B 和 C 部分的答案，并说明其中的不同。

问题 2-13 A. 一个原子的第一、第二及第三电子层中各可容纳多少个电子？

B. 下列元素的原子需要获得或者失去多少个电子后才能完全填满相应的能级？

氦	获得________	失去________
氧	获得________	失去________
碳	获得________	失去________
钠	获得________	失去________
氯	获得________	失去________

C. 通过上述答案，试回答钠原子和氯原子之间可以形成什么类型的化学键？

问题 2-14 氧原子和硫原子有着相似的化学性质，这是因为两个元素的最外电子层都有 6 个电子。事实上，两个元素都能和两个氢原子形成分子，分别是水（H_2O）与硫化氢（H_2S）。令人惊奇的是，尽管硫原子比氧原子大而且重很多，但水却是一种液体，而 H_2S 是一种气体。试说明其中可能的原因。

问题 2-15 写出两个氨基酸通过缩合反应形成一个肽键的化学反应式。写出肽键水解的化学反应式。

问题 2-16 下列陈述中，哪些是正确的？并作相应的解释。

A. 蛋白质具有如此惊人的多样性，这是因为每种蛋白质是由特定的氨基酸随机排列而成。

B. 脂双分子层是绝大部分由磷脂亚基组成的大分子。

C. 核酸中含有糖基团。

D. 许多氨基酸含有疏水的侧链。

E. 磷脂分子中疏水的尾部与水相斥。

F. DNA 中含 4 个不同的碱基，即 A、G、U 和 C。

问题 2-17 A. 从 20 种天然存在的氨基酸中取出(a)2 个、(b)3 个和(c)4 个氨基酸，经肽键相连可以形成多少种不同的分子？

B. 假设给你一个由分子质量为 4800 Da 的小蛋白质组成的混合物，其中包含了所有可能的氨基酸序列。如果每个氨基酸的平均分子量为 120，那么这个样品的质量是多少？你需要一个多大体积的容器来存放这个样品？

C. 关于现今生物所用蛋白质的数目占全部可能蛋白质总数的比例这个问题，上面的计算结果告诉了你什么（蛋白质的平均分子质量约为 30 000 Da）？

问题 2-18 这是一本生物学教科书。试说明为什么本章中描述的化学原理对于现代细胞生物学来说是非常重要的？

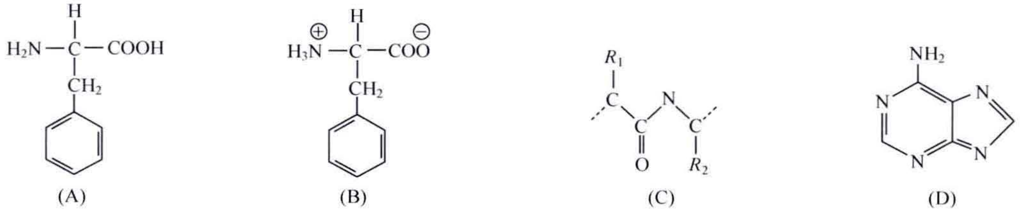
问题 2-19 A. 请说明范德华力与氢键之间的异同点。

B. 下列情况下，会形成上述两键中的哪一种？(a)与碳原子结合着的氢原子之间，(b)一个氮原子与一个同碳原子结合的氢原子之间以及(c)一个氮原子与一个同氧原子结合的氢原子之间？

问题 2-20 哪些作用力决定了一个大分子折叠形成独特的形状？

问题 2-21 脂肪酸被称为“两性分子”，请问这个词的含义是什么？一个两性分子在水中如何表现？试画图说明你的答案。

问题 2-22 如图 Q2-22 所示，下列分子式是否正确？试对每个回答作出相应的解释。



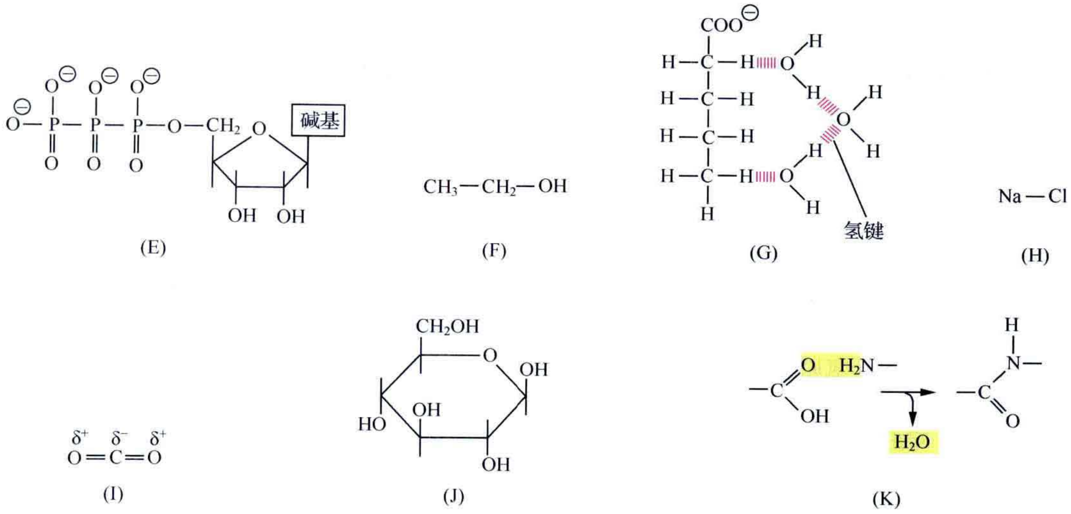


图 Q2-22

（陈跃磊　译）

3

3.1 细胞中能量的利用
3.2 自由能和催化作用
3.3 活化的载体分子与生物合成

能量、催化作用与生物合成

在无序性总在增大的宇宙中，生物一个最重要的、使它们不同于非生物的、看上去仿佛是超自然的性质是：生物创造并保持有序性。为了创建这种有序性，生物中的细胞必须无休止地进行一连串的化学反应。有些反应分解或改造有机小分子如氨基酸、糖、核苷酸及脂，从而为细胞提供它所需要的其他各种小分子。另一些反应利用这些小分子构建出一大群极为多样化的蛋白质、核酸和其他的大分子，来赋予生物许多不同的特性。每个细胞就像一个微型化工厂，每秒钟都在进行许许多多的化学反应。

为了进行为维持细胞存活所必需的多种化学反应，生物需要存在于食物分子中的原子，还有能量。归根结蒂，原子及能量必然来自非生物环境。我们在本章讨论细胞为什么需要能量，以及它们如何利用环境中的原子和能量创建分子层面上的有序性，从而使生命存在下去。

在细胞中进行的那些化学反应，通常只可能在远高于细胞温度的条件下进行。因此，每个反应都需要一种化学活性方面的助推作用，使反应能在细胞中快速进行。这一助推作用是通过那些称为酶的特殊蛋白质来实现的，每一个酶仅加速（或称为催化）给定的一个分子可能会发生的许多反应中的一个反应。由酶催化的那些反应通常接连成串，一个反应的产物成为下一个反应的原料或底物（图 3-1）。这一连串反应途径又称为代谢途径，它们是相互连接的，形成一个互相关联的网络。

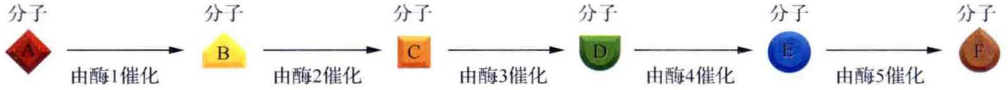


图 3-1 一系列酶催化的反应形成一条代谢途径。每一种酶催化一个特定的化学反应。本例中，一组酶依次发挥作用，将分子 A 转变为 F，形成一条代谢途径。

酶催化的依赖性并不给细胞带来不便，相反是有益的。因为它是细胞能精确地调控其**新陈代谢**（细胞生存，生长和繁殖所需要的全部化学反应）。这种调控对于生命来说是很至关重要的。

细胞内有两套相反的化学反应：①**分解代谢**途径，把食物分解成更小的分子，从而既产生可被细胞利用的能量，又产生一些小分子，这些小分子是构建细胞"大厦"所需要的"结构单元"。②**合成代谢**途径，利用分解代谢中获得的能量，用于构建细胞的其他许多分子的驱动。这两套反应一起组成细胞的新陈代谢(图 3-2)。

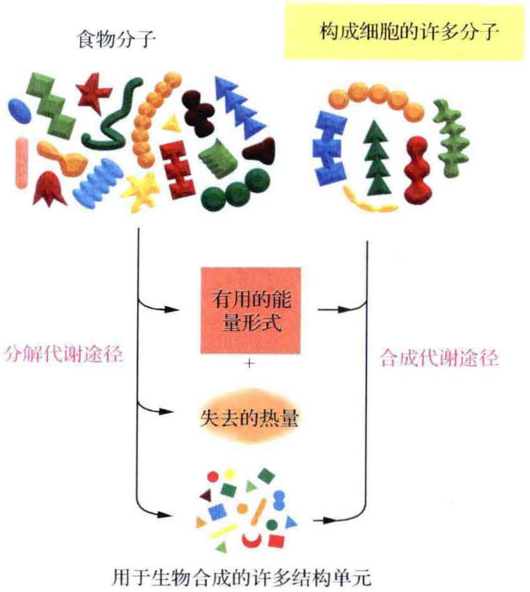


图 3-2　合成代谢与分解代谢途径共同组成细胞的新陈代谢。由于储存在食物分子化学键中的大部分能量以热形式被耗散掉，因而只有其中一部分可以被转换成用于合成新分子的有用的能量形式。

细胞新陈代谢的许多细节是生物化学的主题，我们在这里不予讨论。但是细胞从环境中获得能量并利用它创造有序性，这方面的一些基本规律是细胞生物学的核心。本章从讨论为什么生物的生存需要不断地输入能量开始，然后探讨酶如何催化使得生物产生有序性的反应。最后，我们描述那些携带使得生命得以存在的能量分子。

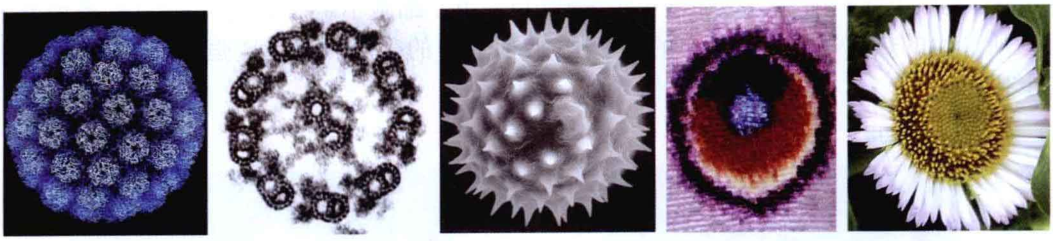
3.1　细胞中能量的利用

非生物最终让自身变得无序，如建筑物的崩溃、死亡生物的腐朽。与之相反，活细胞不仅维持着生存，并且实际上在各个层次产生有序性，从一只蝴蝶或一朵花的大尺度的有序性，直至生物组成分子中原子的组织(图 3-3)。生命之所以具有这种性质，是因为细胞具有精巧的机构，它可以从环境中摄取能量，并将其转变成储藏在化学键中的能量，用于不断地驱动产生生物的有序性。即使它们使用的材料不断地被替代和回收，生物本身的结构也能够维持它们的这种稳定形式。尽管你身体中的绝大部分原子在十年前并不在你的身体内，但你的身体具有和十年前一样的基础结构。

3.1.1　细胞释放热能，从而有可能形成生物学有序性

物理学的一条基本规律即热力学第二定律表述了物质无序化的普遍倾向。这条定律指出，宇宙或任何一个孤立体系(与宇宙其余部分完全隔离的一个物质集合)，它的无序性程度只能增加。这条定律对于一切生物意义深远，值得从几个方面重新加以阐述。

例如，我们可以用概率论的语言表述这条热力学第二定律，指出体系会朝着那些具有最大概率的布局自发地变化。例如，假设有一只匣子，里面有一百个正面向上的硬币。一系列的偶然事件扰动这只匣子，会使匣内的这些硬币朝着 50 个硬币正面向上、另外 50 个背面向上这样



(A) (B) (C) (D) (E)

图 3-3 生物结构是高度有序的。在生物的每一个组织层次上，都能看到明确、精巧而优美的图形：(A)病毒外壳中的蛋白质分子(它是寄生物，尽管不能独立存活，但含有与存活的细胞中相同类型的分子)；(B)精子尾部横切面中见到的微管有规则的排列；(C)花粉粒(一个单细胞)的表面轮廓；(D)蝴蝶翅膀的特写，显示由鳞片构成的图案，每个鳞片是一个单细胞的产物；(E)花的种子呈螺旋状排列，每一个都由许许多多细胞组成。(A 蒙 Robert Grant、Stephane Crainic 和 James M. Hogle 惠许；B 蒙 Lewis Tilney 惠许；C 蒙 Colin MacFarlane 和 Chris Jeffree 惠许；D 及 E 蒙 Kjell B. Sandved 惠许)

一种情形变化。其原因是简单的：在这种 50-50 混合体中，这一枚枚硬币可能的排列数是很庞大的。但是全部硬币正面都向上的可能排列却只有一个。因为，这种 50-50 混合状态下对单个硬币在朝向上有最大的可能性和最小的约束力，我们说它更无序化。同样原因，一个日常的经验是，某人的住地若不注意整理，就会愈来愈杂乱无章——倾向无序化是一个自发的过程，需要定期的努力来逆转这种无序状态(图 3-4)。

图 3-4 一个日常的自发趋向无序化现象。重建有序并不是自发发生的，针对趋向无序这一天然倾向的逆转需求，需要有意识的努力干预以及输入能量。其实，根据热力学第二定律我们可以肯定，由于需要人类干预因而会向环境释放热量，它足以超过"在这间屋内重新整理这些物品"所需的能量。

对这种无序性的计量称为体系的**熵**：无序化的程度愈大，熵也愈大。因此表述热力学第二定律的另一种方式是，体系将自发地向熵更大的状态转变。活的细胞通过生存、生长并形成复杂集合乃至一个整体生物，正在形成有序性，这似乎在违背热力学第二定律。但其实不是这样。答案是：一个细胞不是一个孤立的体系，它从环境中以食物、无机分子或是从太阳光束来的光子的形式获取能量，然后利用这种能量在其自身中形成有序化，造出新的化学键，构造大分子。在形成有序化的化学反应过程中，化学键能被转换成热量。热是一种最为无序的形式，它随机地

推撞分子(类似于前面随机地推撞盒子中的硬币)。由于细胞不是一个独立的系统,故细胞中化学反应所产生的热被迅速释放至它的环境中,使环境中的分子热运动增强,从而增加环境中的熵(图 3-5)。

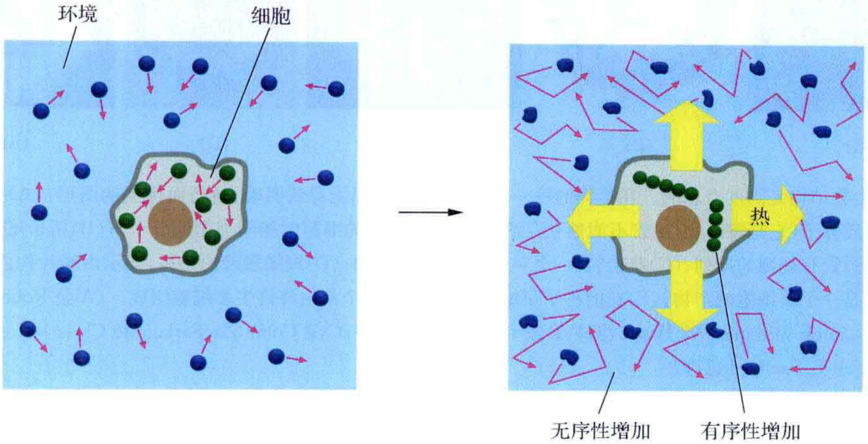


图 3-5 活的细胞并不违背热力学定律。左边图中细胞及其周围的宇宙(环境)二者的分子都被画成相对较无序的状态。右边图中细胞已从食物分子摄入能量,并由一个使胞内分子有序化的反应释放热量。因为热使细胞周围环境中的无序性增加(画成锯齿形箭以表示热运动增加,以及变形分子以表示分子的振动和旋转增加),所以即使在细胞生长与分裂的情况下热力学第二定律仍然得以满足。热力学第二定律指出宇宙中的无序程度必然总在增加。

细胞所释放的热量必定是足够大,以致周围环境中有序性的降低要比细胞内有序性的建立来得大。只有在这一情况下,热力学第二定律才得到满足,因为此时系统中的总的熵——细胞内的加上胞外环境的——将由于胞内发生的化学反应而增加。

细胞释放的热来自哪里?根据热力学第一定律指出能量可以从一种形式转变为另一种形式,但它不能被创造也不能被消灭。图 3-6 表示能量的一些转换形式。细胞内以各种不同形式存在的能量的多少会由于化学反应的结果而发生变化,但是第一定律告诉我们宇宙中能量的总和必然是恒定的。例如,一个动物细胞摄入食物并且将这些食物分子中化学键的一部分能量(化学键能)转化为分子的无序热运动(热能)。如果细胞里面的反应将引起整个宇宙变得更无序化,那么这种化学能至热能的转化是必不可少的,正如第二定律所要求的那样。

除非细胞内的这个产热反应直接与形成分子有序性的过程相联系,否则细胞不会因其释放热能而有利可图。正是产热与有序性的增加之间的这种紧密联系使细胞新陈代谢有别于燃料在火焰中燃烧而浪费掉。在本章后面我们将说明这种联系是如何发生的。不过现在我们只要记住,通过将食物分子的"燃烧"直接与产生生物学的有序性相关联,在一个趋向混沌的宇宙中细胞可以创建并维持一个有序性的"岛屿"。

3.1.2 光合生物利用太阳光合成有机分子

所有动物依靠储存在有机分子化学键中的能量而生活,这些有机分子是由其他生物制造,而动物以它们为食物。食物也为动物用于构建新的生物物质提供原子。有些动物以其他动物为食。但是动物性食物链的第一级是消费植物或其他光合生物的动物,在被吃掉之前,植物直接从太阳光捕获能量。因此动物利用的能量归根结蒂来自太阳(图 3-7)。

太阳能通过**光合作用**进入生物界。光合作用使太阳光中的电磁能转换为细胞中的化学键能。光合作用生物——包括植物、藻类和一些细菌——能够从无机物资源中获得它们所需要的所有原子。例如,植物,利用来自大气二氧化碳的碳,来自水的氢和氧,来自土壤中的氨及硝酸

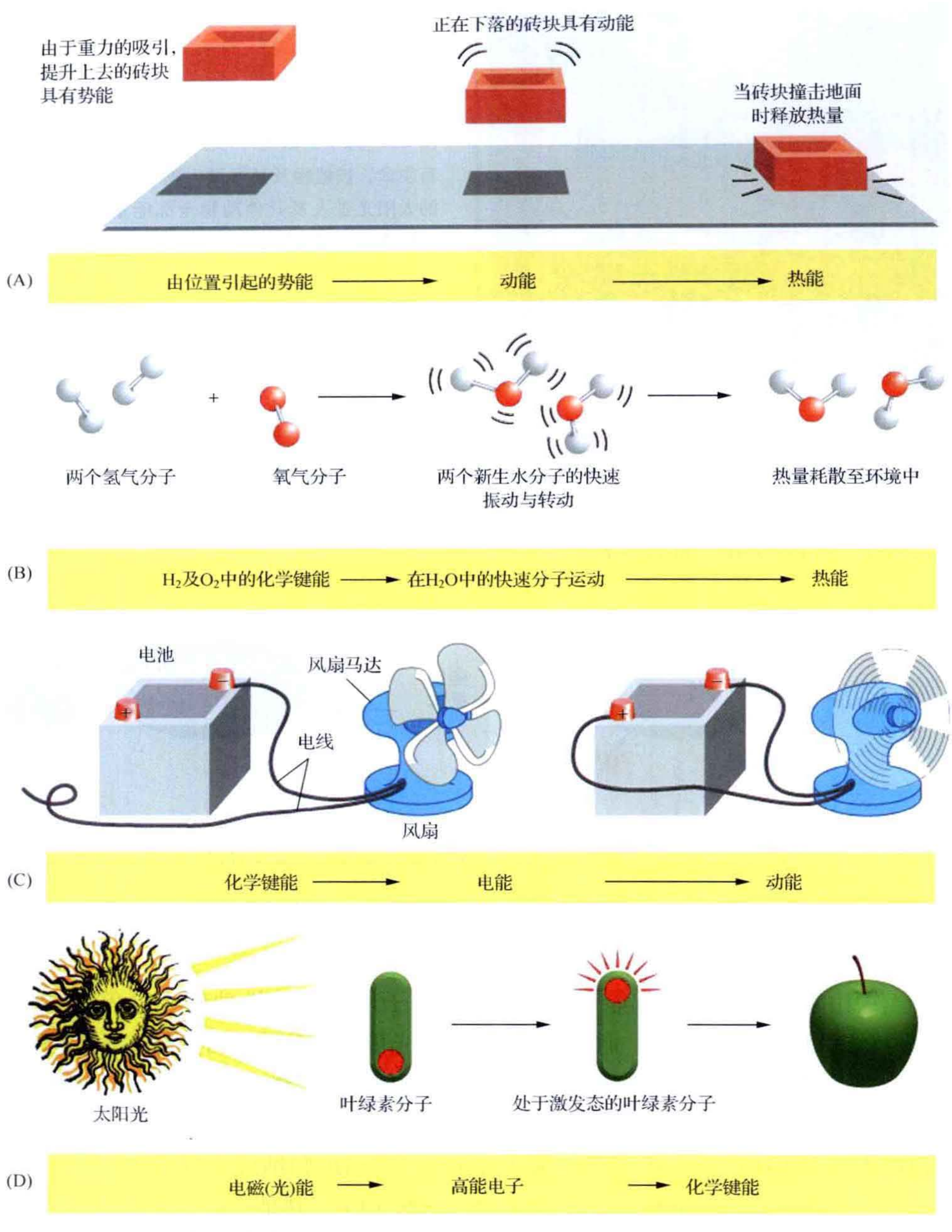


图 3-6　各种能量形式之间可相互转换。一切能量形式可以互相转换，但总能量守恒。因此，在第一个例子(A)中，我们可以从砖块的高度及重量精确地预言，当砖块碰撞地面时会释放出多少热量；在第二个例子(B)中，当水形成时释放出的大量化学键能，一开始便被转变为两个新的水分子的快速热运动，但由于同其他分子发生碰撞，这种动能几乎在瞬间便均匀地扩展到整个环境中(热传递)，从而使这些新形成的分子与所有其他分子之间难以区别。在第三个例子(C)中，细胞可以将化学键能转化为动能，用以驱动分子马达，尽管它不像电扇需要中间转换为电能来驱动风扇叶片。对于第四个例子(D)，细胞可以通过光合作用从太阳能中获得能量。

盐的氮，其他所需要的少量元素来自土壤中的无机盐。它们利用从阳光中获得的能量，在这些原子之间构建起化学键，将它们连接起来形成小的单元如糖、氨基酸、核苷酸和脂肪酸。这些小分子再转换成为大分子如蛋白质、核酸、多糖和磷脂等，从而构成植物。所有这些物质随后成为以植物为生的动物或是真菌以及那些不能进行光合作用的细菌的营养。

图 3-7　除了少数例外，太阳光的辐射能维持了所有生命。被植物及某些微生物通过光合作用捕获的太阳光是人及其他动物全部能量的根本源泉。（蒙 Museum Folkwag，Essen 惠许）

光合作用反应分两步进行，一步依赖光而另一步不依赖光（图 3-8）。第一阶段即光依赖阶段，阳光中的能量被捕获并暂时以化学键能的形式储存在特殊的小分子里，这些小分子把能量携带在活性化学基团中（我们在后面详细讨论这些活性载体分子）。水被光分解产生分子氧（氧气），它作为第一阶段的副产品而被释放。

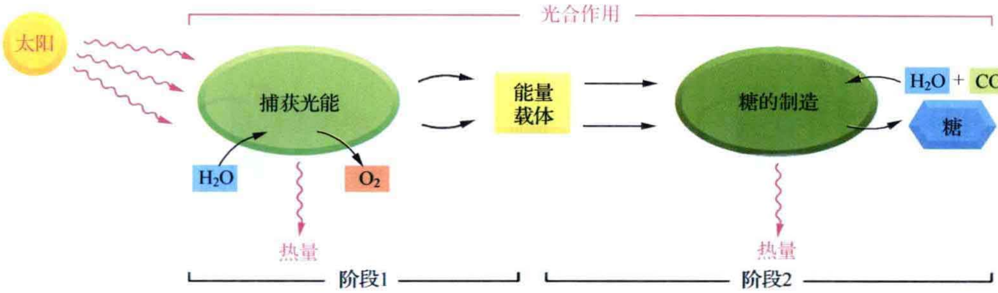


图 3-8　光合作用有两个阶段，第一阶段是光依赖的，第二个不依赖光。第一阶段创建的能量载体是我们将简要讨论的两种分子——ATP 与 NADPH。

在光合作用的第二阶段中，起能量载体作用的分子用于帮助推动固碳过程，利用二氧化碳气体（CO_2）及水（H_2O）来制造糖。通过制造糖，这些光依赖反应产生了储存的化学键能和物质的基本储备，既为植物自身也可为吃植物的动物所利用。我们将在第 14 章中详细阐述光合作用这两个阶段所依赖的精巧机制。

光合作用全过程的最终结果，就绿色植物而论，可简洁地归纳成下列方程

$$\text{光能} + CO_2 + H_2O \longrightarrow \text{糖} + O_2 + \text{热能}$$

所产生的糖，以后既是化学键能的一种能源又是一种原料，用于制造植物细胞必需的其他许多大大小小的分子。

3.1.3　细胞通过有机分子的氧化作用获得能量

一切动植物细胞都需要储存在有机分子化学键中的化学能，后者可以是植物通过光合作用合成的作为其食物的糖，也可以是动物吃下的各种大小分子的混合物。为了利用这种能量以求生存、生长及繁殖，生物必须以一种可加以利用的形式提取它们。动物和植物都通过一种逐渐氧化的过程或称为受控制的燃烧过程从食物分子中提取能量。

地球大气含有大量氧（约 21%），与氧共存且在能量方面最稳定的碳的存在形式是 CO_2，而氢则取 H_2O 这样一个存在形式。因此，细胞通过呼吸作用，即令糖和其他有机分子中的碳原子

及氢原子与氧结合，发生氧化反应并产生 CO_2 及 H_2O，从而获得能量。该过程就是细胞的**呼吸**。

光合作用及呼吸作用是两个互补的过程(图 3-9)。这表明动物与植物之间的交易不只是取一条路线。植物、动物及微生物在这颗行星上共存已久，它们中有许多已成为另一种生物环境中的一部分。几乎一切生物在氧化有机物的过程中都消耗光合作用释放的氧。今天绿色叶子通过光合作用合成的有机分子所固定的一些 CO_2 分子是昨天一个动物通过呼吸作用释放到大气中去的，或者由分解无生命有机物的真菌或细菌所释放的或者就是叶子自己呼吸产生的。因此我们看到碳的利用形成了一个包括整个生物圈(地球上的全部生物)在内的庞大的循环，跨越了生物个体之间的界面(图 3-10)。类似地，氮、磷及硫原子在生物界及非生物界之间循环流动，循环中包括植物、动物、真菌和细菌。事实上，据估计原核生物包含了几乎一半的活生物中碳的储存量。它们同时也是在地球上单一的最大的氮和磷保存者，含有超过植物 10 倍以上的营养物质。

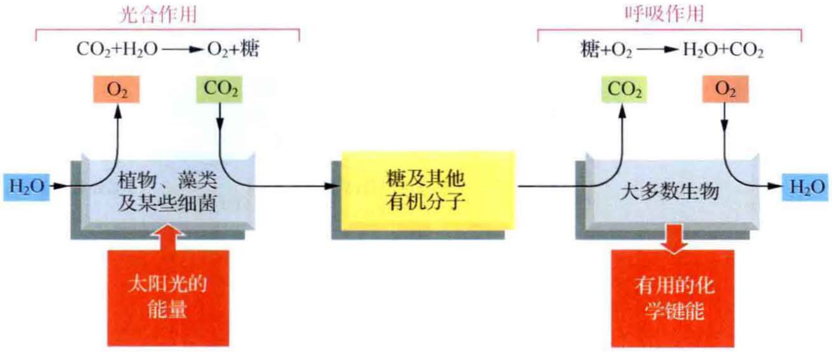


图 3-9　光合作用及呼吸作用在生物界是互补的过程。图的左边部分显示由植物和光合微生物执行的光合作用，利用太阳光能将大气中 CO_2 的碳原子生产出糖及其他有机分子，这些分子再成为其他生物的食物。图的右边显示这些生物中的细胞如何呼吸，利用 O_2 氧化食物分子，将相同的碳原子以 CO_2 的形式释放回大气中。在这个过程中，进行呼吸作用的生物获得其生存所需要的化学键能。地球上第一个细胞被认为既不能进行光合作用也不进行呼吸作用(我们将在第 14 章中讨论)。然而，地球上的光合作用必定先于呼吸作用，因为有力的证据表明，需要亿万年的光合作用才能释放足够数量的 O_2，以创建可以进行呼吸作用的富氧大气(现今地球大气中含有 20%的 O_2)。

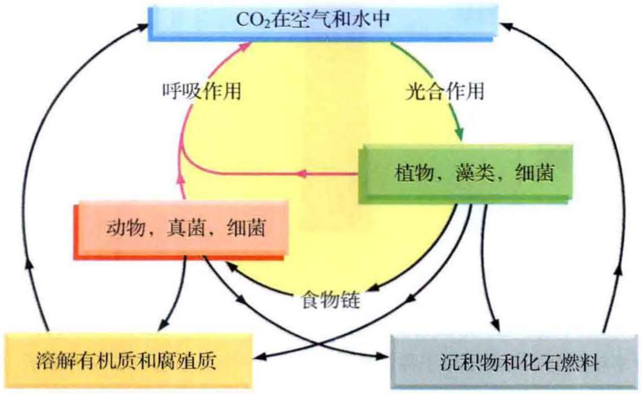


图 3-10　碳原子在生物圈中持续循环。单个碳原子通过植物、藻类和细菌的光合作用整合到生物世界的有机分子中，它们随后进入动物和微生物体内并通过循环路径进入土壤和海洋中的有机物质中。当有机分子被细胞通过呼吸作用氧化或是人类焚烧化石燃料后，即释放 CO_2 回到大气中。

3.1.4　氧化及还原反应涉及电子转移

细胞不像有机物在火中燃烧那样一步就把有机物氧化掉。通过酶的催化作用，分子在代谢过程中经历大量反应，其中很少涉及直接加氧。在考虑其中一些反应及其意义之前，我们需要

讨论什么是氧化过程。

氧化作用在文字意义上指对一个分子加上氧原子，尽管在更为普遍的意义上它指电子从一个原子转移至另一个原子的任何反应。在这个意义上氧化作用系指失去电子，而**还原作用**——与氧化作用相反——是指得到电子。因此，若 Fe^{2+} 失去一个电子变成 Fe^{3+}，则 Fe^{2+} 被氧化，而一个氯原子如果得到一个电子变成 Cl^{-}，则这个氯原子被还原。由于在一个化学反应中电子数是守恒的（不减少也不增加），氧化作用及还原作用总是同时发生，即一个反应中若一个分子得到一个电子（还原），则另一个分子失去这个电子（氧化）。例如，当一个糖分子被氧化成 CO_2 及 H_2O 时，形成 H_2O 的那个 O_2 得到电子，因此说它被还原。

当在共价键连接的原子之间发生电子的部分转移时，也用“氧化”及“还原”这两个名词。当一个碳原子与一个具有很强电子亲和性的原子如氧、氯或硫共价结合时，它放弃均等的电子共享并进而形成一种极性共价键：此时碳原子核的正电荷比它电子的负电荷稍多一些，因此这个原子具有部分正电荷（δ^{+}）而可说它被氧化。反之，在 C—H 键中的碳原子分享的电子稍多一些，它具有部分负电荷（δ^{-}）因此说它被还原（图 3-11A）。

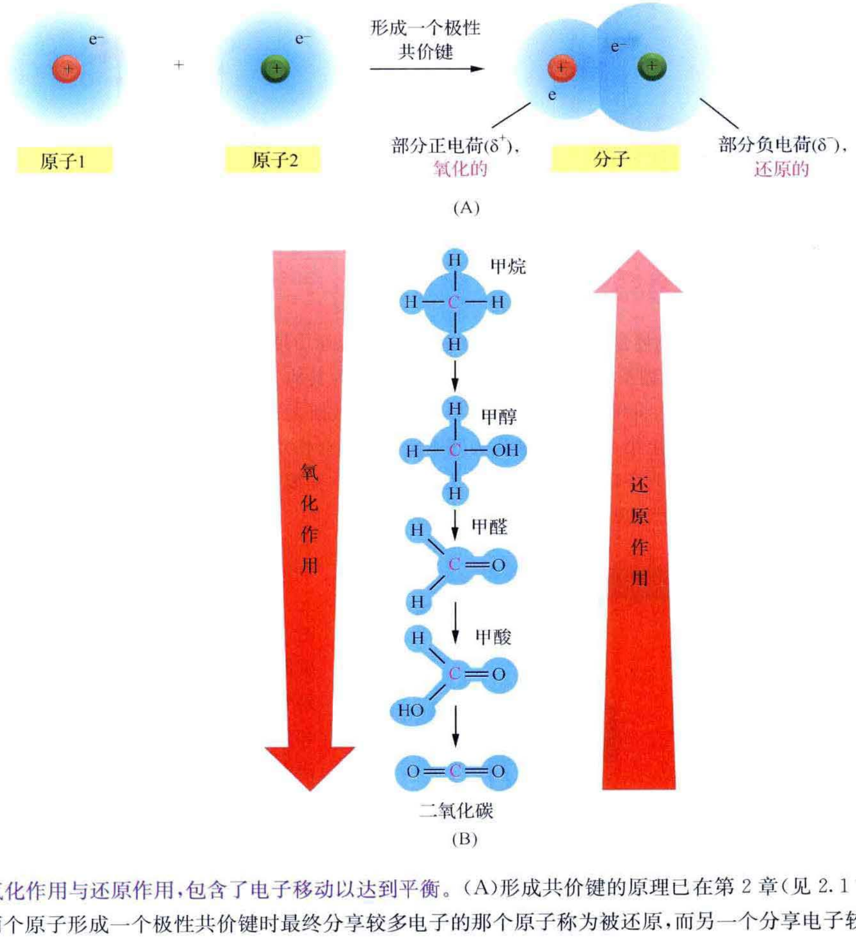


图 3-11　氧化作用与还原作用，包含了电子移动以达到平衡。(A)形成共价键的原理已在第 2 章（见 2.1 节）中讨论过了。当两个原子形成一个极性共价键时最终分享较多电子的那个原子称为被还原，而另一个分享电子较少的原子称为被氧化。被还原的原子获得了一份阴性的分电荷（δ^{-}），因为现在原子核周围总的电子电荷多于原子核上的正电荷，反之，被氧化的原子得到一个阳性的分电荷（δ^{+}），因为此刻原子核中的正电荷超过了围绕它的电子的总电荷。(B)一个简单的还原的碳化合物如甲烷，可以因其共价键上的氢原子被氧原子逐步替代从而分步被氧化。在每一步中，电子（此处以蓝色云代表）从碳周围移开，碳原子被氧化的程度因而逐步增强。如果移动以相反方向进行，那么因为它的氧原子被氢取代而生成甲烷，所以二氧化碳的还原态将加强。

当细胞中的一个分子得到一个电子(e^-)时，它常常同时得到一个质子(H^+)(水中质子可被随意获取)。在这种情况下最终结果是一个氢原子加至一个分子上：

$$A+e^-+H^+ \longrightarrow AH$$

即使涉及一个质子加上一个电子(不是仅仅一个电子)，这类氢化反应还是还原作用；反之，脱氢反应是氧化作用。要想知道一个有机分子究竟是被氧化还是被还原只要数它的 C—H 键即可：若它的 C—H 键个数增加则发生了还原作用，若 C—H 键个数减少则发生了氧化作用(图 3-11B)。

我们将在这章的后面看到，细胞利用酶一小步一小步地催化有机分子的氧化作用，通过一连串的反应获取可利用的能量。

3.2 自由能和催化作用

酶和细胞一样，遵守热力学第二定律。尽管它们能够加速能量有利的反应——在宇宙中产生无序性——酶本身不能迫使能量不利的反应发生。然而，细胞必须做一些能量不利的反应来使得它们能够生长和分裂：它们必须从小和简单的物质中构建高度有序和富含能量的分子——这个过程需要输入能量。

为了理解酶是如何能催化这些能量不利却又维持生命的反应，我们首先需要来看看其中包含的能量学。在这章中，我们考虑分子中的自由能是如何在化学反应中贡献能量的，我们还将学习自由能是如何改变的——这将反映出在反应中有多少无序性产生——以影响该反应是否以及如何产生的。我们还将讨论酶是如何利用自由能变化的不同来产生生物有序性的。但是首先我们将回顾**催化**是如何在活细胞中快速而又精密地发生的。

3.2.1 酶降低阻止化学反应的势垒

考虑这样一个反应：

$$纸+O_2 \longrightarrow 烟+灰+热+CO_2+H_2O$$

在这里纸被燃烧，能量以热的形式释放到大气中，H_2O 和 CO_2 以气体形式释放到大气中，但是这只能是一个单向的反应，烟和灰不能自主地从加热了的大气中获取 CO_2 和 H_2O 恢复实体并重建成纸。当纸燃烧时，它的化学能以热的形式被耗散掉——并不从宇宙中消失，因为能量既不能创造也不能被消灭，只是不可逆地耗散在分子的混沌随机热运动中。同时，纸的原子和分子变得离散而无序。就热力学的术语来讲，已经有*自由能*的损失(自由能是这样一种能量，它们可以被收集起来用于做功或驱动化学反应)。这种损失反映了能量以分子形式储存在纸张中的那个有序性消失了。不久我们将更详细地讨论自由能，但是总的原则可以归纳为：化学反应只在导致自由能损失的一个方向上发生。换言之，任何反应的自发方向是“下坡”的那个方向。在这个意义上一个“下坡”反应常被说成是能量方面有利的。

虽然在通常条件下碳在能量方面最有利的形式是 CO_2，而氢是 H_2O 形式，但一个活的生物并不以一股青烟消失，而你手中的书本也不会自发地燃起火焰，这是因为在活的生物以及书本中的分子处于一种相对稳定的状态，它们不能在无能量输入的条件下转变为能量更低的状态，换句话说，一个分子在能够进行一个化学反应从而使它处于一个能量更低(更稳定)的状态之前需要**活化能**——需要一个跳跃以越过能量的势垒(图 3-12A)。在燃烧一本书时，活化能由一根点燃着的火柴的热所提供。对于细胞中水溶液里的分子，这种跳跃是由一种与周围分子的有力碰撞所提供的——这种碰撞由于温度升高而变得更加剧烈。

在活细胞的温度中，这种跨过能量势垒的跳跃得到一类特殊蛋白质——**酶**——的很大的帮

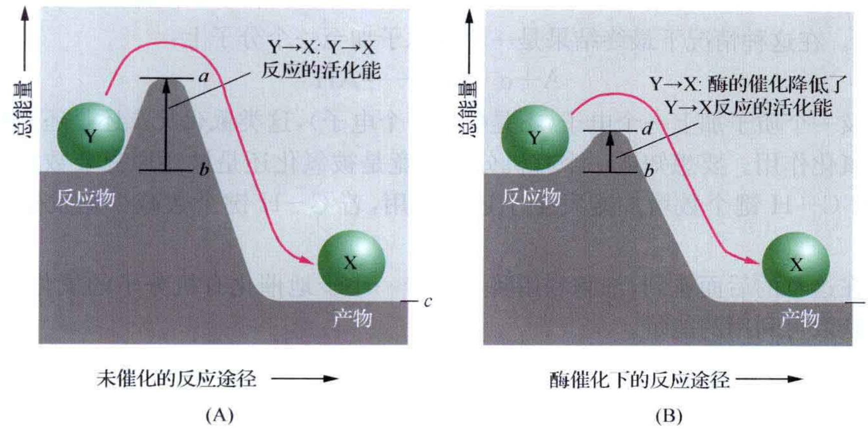


图 3-12　甚至能量的有利反应也需要活化能来起始反应。(A)化合物 Y(反应物)处于稳定状态。欲将 Y 转变为化合物 X(产物),则需要能量,即使 X 的总能量水平比 Y 低也是如此。因此,如果化合物 Y 从其周围得不到足够的将其转变成化合物 X 所需要的活化能(能量 a 减去能量 b),这种转变就不会发生。这种能量可通过不太寻常的高能碰撞提供。而其逆反应 X→Y 的活化能要大许多(能量 a 减去能量 c),因此这个反应极少发生。活化能总是正的。注意,在能量方面有利的反应 Y→X 总的能量变化是能量 c 减去能量 b,为一个负的数值。(B)对于某一反应的能量势垒可以被催化剂所降低,就如图中标注的 d。酶是特别有效的催化剂,能极大地降低它们催化反应的活化能。

助。每一个酶与一个或两个称为**底物**的分子紧密结合,这种结合方式使结合着的底物进行特定化学反应所需的活化能大大降低(图 3-12B)。可以降低一个反应的活化能的物质称为**催化剂**;催化剂提高化学反应速率,因为它使分子的更大部分与周围分子随机碰撞以跃过能量势垒,如图 3-13 和图 3-14(A)所示。酶属于已知的最有效的催化剂,常常把反应速率提高到 10^{14} 倍(意味着同样的反应将会比没有酶存在条件下快上万亿倍),因此它们让那些在常温下不能发生的反应得以高速进行。假如没有酶,生命也将不会存在。

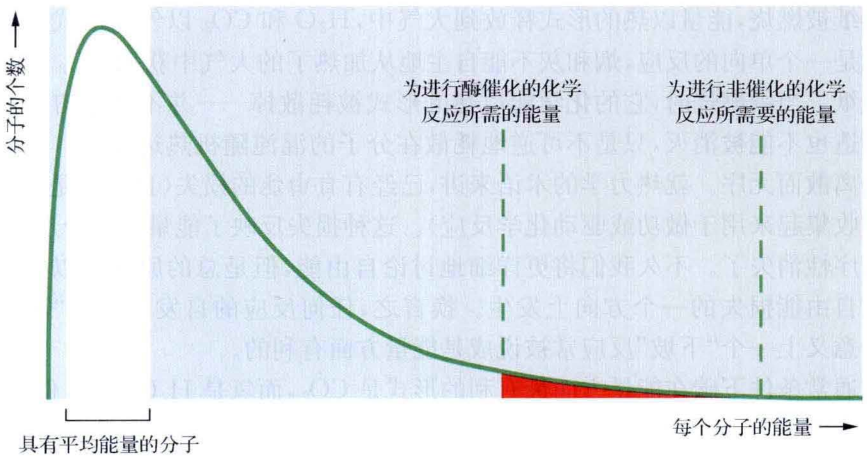


图 3-13　活化能的降低大大增加反应的概率。相同的一群底物分子在任一瞬时都会有一个能量范围,其分布如图所示。各不相同的能量来自于同周围分子的碰撞,这种碰撞使底物分子颤动、振动并旋转。要使一个分子进行一个化学反应,这个分子的能量必须超过这个反应的活化能(虚线)。对于大多数生物学反应来说,如果没有酶催化是几乎不会发生的。即使有酶催化,要进行反应,也只有一小部分底物分子拥有足够高的进行反应的能量(红色阴影区)。

与温度不同,酶是高度选择性的。一般每一种酶只催化一个特定的反应,换言之,在与其相

结合的底物分子所可能进行的几个化学反应中，它只选择性地降低其中一个反应的活化能。通过这种方式，酶指引着细胞中许多不同的分子参与各自特定的反应途径(图 3-14B 和 C)，这样就能产出细胞实际需要的化合物。

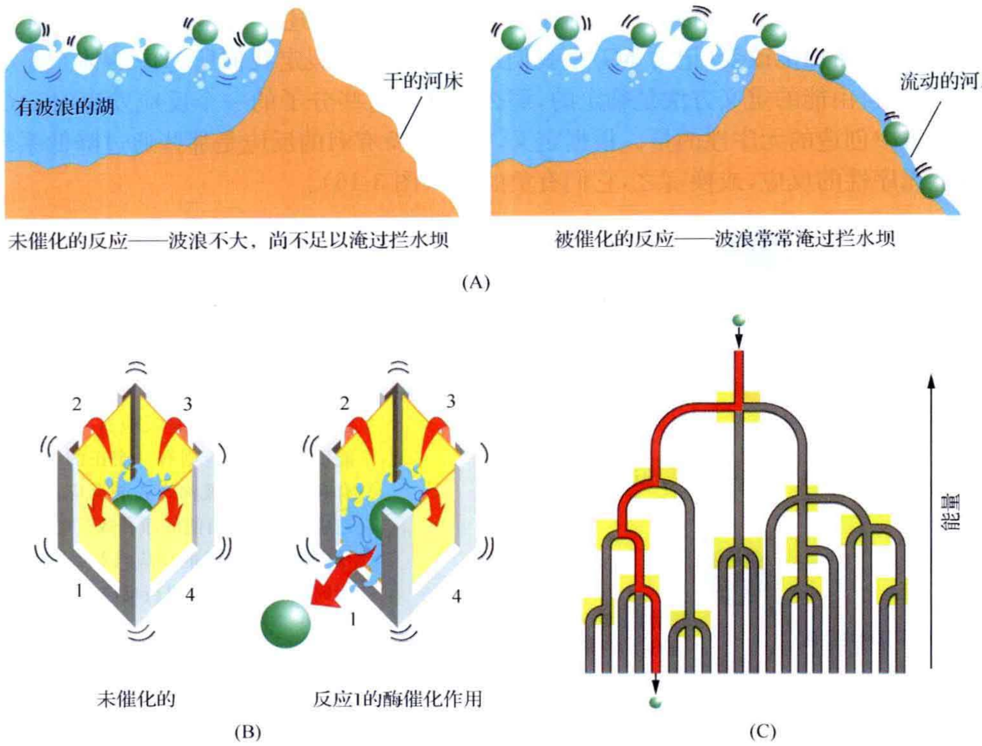


图 3-14　酶通过降低活化能势垒催化反应。(A)拦水坝代表活化能，因酶催化而被降低。绿色小球代表潜在的底物分子，因为与波相撞而在能量水平上不断跳跃。这类似于底物与周围水分子的热碰撞。当拦水坝(活化能)明显降低时，小球(底物)有足够的能量可以滚下坡，这是一个能量方面有利的运动。(B)匣子的四壁代表 4 个不同的化学反应的活化能势垒。它们都是能量方面有利的，因为产物位于此底物能量低的水平上。在左边图中，没有一个反应能发生，因为即使是最大的浪也不够大到可以越过任意一个屏障。在右边匣子内，酶的催化作用仅降低了反应 1 的活化能；现在波浪的推挤使分子能够越过这个能量屏障，导致反应 1 的发生(见视频 3.1)。(C)一条一组拦河坝分支的河流(黄色方块)用于说明一系列酶催化反应如何通过专一性控制每个分支点上哪个反应能够进行，从而决定细胞内的每一个分子应该进行的反应途径。

生物的成功归功于细胞有能力制造很多种酶，每种酶都有精确的专一性。每种酶有一个特定的包括一个活性部位的形状。该活性部位是酶分子内的一个口袋或一条沟，只有特定的底物分子才可以镶嵌进去(图 3-15)。像其他催化剂那样，在参与一个反应后酶分子本身保持不变，因此可以一次又一次地起作用。在第 4 章中我们将在仔细观察蛋白质分子的结构以后，再讨论酶是如何工作的。

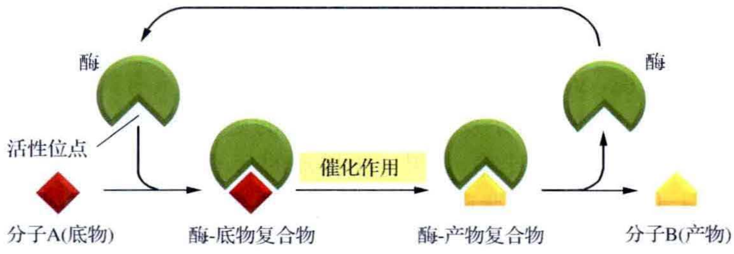


图 3-15　酶将底物转变为产物，自己保持不变。每一个酶有一个活性部位，它结合一个或两个底物分子，形成酶-底物复合物。反应在活性部位发生，产生酶-产物复合物，产物而后被释放，使酶能够再与另外的底物分子结合并重复反应。

3.2.2 一个反应的自由能变化决定这个反应能否进行

根据热力学第二定律，一个化学反应只有当它引起宇宙中无序性有净增加的时候才能自发进行(图 3-5)。当可以利用的(可以做功的)有用能量以热形式耗散时无序性增大。无序性增加的判断标准可以方便地用一个称为一个体系的**自由能**(G)来表述。当体系经历变化时 G 值是最受关注的，因此**自由能改变**(记为 $\boldsymbol{\Delta G}$)是我们最常用的词。假定我们所考虑的体系是分子的一个集合，由于自由能的定义方法是确定的，那么当涉及这些分子的一个反应发生时，ΔG 便可量度它在宇宙中创造的无序性的量。根据定义，能量方面有利的反应是那些通过降低系统中自由能来创造无序性的反应，或换言之，它们有负的 ΔG(图 3-16)。

图 3-16 能量有利的反应有一个负的 ΔG，能量不利的反应则有一个正的 ΔG。能量有利的反应也被称为放能反应，因为它们造成了一个自由能的净释放。能量不利的反应也被称为吸能反应，因为它们必须利用周围的自由能以进行反应。

只有 ΔG 是负的时候，一个反应才能自发发生。宏观上能量方面有利的反应的一个熟悉的带有负的 ΔG 的例子是当一个压缩的弹簧松开成伸张的状态，将其储存着的弹性能以热的形式释放到环境中去，而微观的一个例子是盐溶于水中。反之，能量方面不利的反应，带有一个正的 ΔG，如两个氨基酸连接在一起形成一个肽键，它们自身在宇宙中便创造了有序性。这些反应不会自发地发生。因此只有这些反应与一个呈负 ΔG 的第二个反应耦合，且其负的 ΔG 之大足以使总的过程的 ΔG 呈负值时，这些反应才能发生(图 3-17)。生命之所以能存在也是因为酶能够通过偶联很多能量不利和一些能量有利的反应来创造生物的有序性。这些概念总结并举例在图版 3-1 中。

3.2.3 反应物的浓度影响自由能的改变和反应的方向

正如我们已经讨论过的，若相应的自由能变化 ΔG 呈负值，一个反应 $Y \rightleftharpoons X$ 则会沿 $Y \rightarrow X$ 方向进行，正如一个压缩的弹簧被放开时会松弛，失去并以热的形式将其储存的能量释放到周围环境中去。然而，对于一个化学反应来说，ΔG 不仅与储存在每个分子中的能量有关，而且与反应混合物中的分子浓度有关。注意 ΔG 反映了一个反应对导致宇宙的更无序化状态的贡献程度——或者说，更具可能性的状态。再用硬币作比喻，如果一个摇动的盒子里有 90 个正面向上、10 个背面向上的硬币，一个硬币从正面向上转到背面向上的可能性是很大的，但是，若盒内有 10 个硬币正面向上 90 个硬币背面向上，则由正面向上转为背面向上这种事件的可能性就比

较小了。

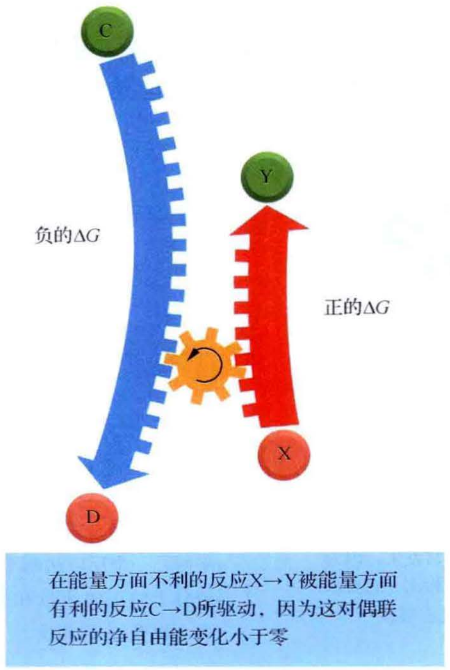


图 3-17　反应偶联($\Delta G<0$)如何能驱动一个能量方面不利的反应。在能量方面不利($\Delta G>0$)的反应 X→Y 只有在与能量方面有利($\Delta G<0$)的反应 C→D 耦合时才能发生，因为这对偶联反应的自由能变化小于零。

对于一个化学反应来说也是如此，在可逆反应 Y ⇌ X 中，如果 Y 大大地多于 X，反应会沿 Y→X 方向进行。也就是有这样一种倾向，即进行 Y→X 转变的分子多于进行X→Y 转变的分子。因此，由于 Y 对 X 的比例增大，相对于 Y→X 转变的 ΔG 就变得更负(相对于 X→Y 转变的 ΔG 则变得更加正)。

3.2.4　标准自由能的变化使得我们能比较不同反应之间的能量

因为 ΔG 依赖于反应混合物中任何时刻的分子浓度，因此它对于比较不同类型反应之间的相对能量来说并不是一个很有用的数值。同时，当预测一个能量有利的反应是否可能拥有一个足够负的 ΔG 来驱动一个能量不利的反应时，又需要对这些反应进行比较。为了使这样的反应能在一个可比较的基础上衡量，我们需要来关注其中一反应的标准自由能变化，即 $\mathbf{\Delta G^{o}}$。ΔG^{o} 与反应物浓度无关，它只依赖于反应物分子的内在性质。该性质基于理想条件下的情况，即反应物的浓度都被设为同样固定的数值 1 mol/L。

对于这个简单反应 Y→X 而言，在 37℃时，ΔG^{o} 相对于 ΔG 为：

$$\Delta G=\Delta G^{o}+RT\ \ln([X]/[Y])$$

式中，ΔG 是每摩尔的千焦耳数，[Y]及[X]为 Y 及 X 的浓度(mol/L)，ln 是自然对数，RT 是气体常数 R 和绝对温度 T 的乘积，在 37℃时，$RT=0.616$(1 mol 物质有 6×10^{23} 个分子)。

许多热力学数据已经被收集起来，用于计算各种代谢反应的 ΔG^{o}。一些常见的反应已经以 ΔG^{o} 的方式做了比较，见图版 3-1 中。

3.2.5　细胞生存于化学不平衡的状态下

从上面的等式中我们可以注意到，当 Y 与 X 的浓度相等时($\ln 1=0$)，ΔG 等于 ΔG^{o} 的值。但是当 Y→X 这个能量有利的反应进行时，产物 X 的浓度提高，反应物 Y 的浓度降低。这种反应浓度的相对变化会导致 X/Y 的值增大，使得最初的能量有利的 ΔG 变得越来越不那么负(一个大于 1 的数，其自然对数值为正，而小于 1 的数其自然对数值为负)。

化学反应通常会继续进行直到它们到达一个**平衡**状态。在那个平衡点上，正向和反向反应的速率是相同的。这样在反应物和产物浓度上没有更多的净变化（图 3-18）。对于一个化学反应平衡来说，其 $\Delta G=0$，所以这个反应不会正向也不会反向进行，故其不会做任何事情。由于在细胞中维持有序性需要持续性地输入能量，所以凡是细胞中所有化学反应达到平衡细胞就会死亡。

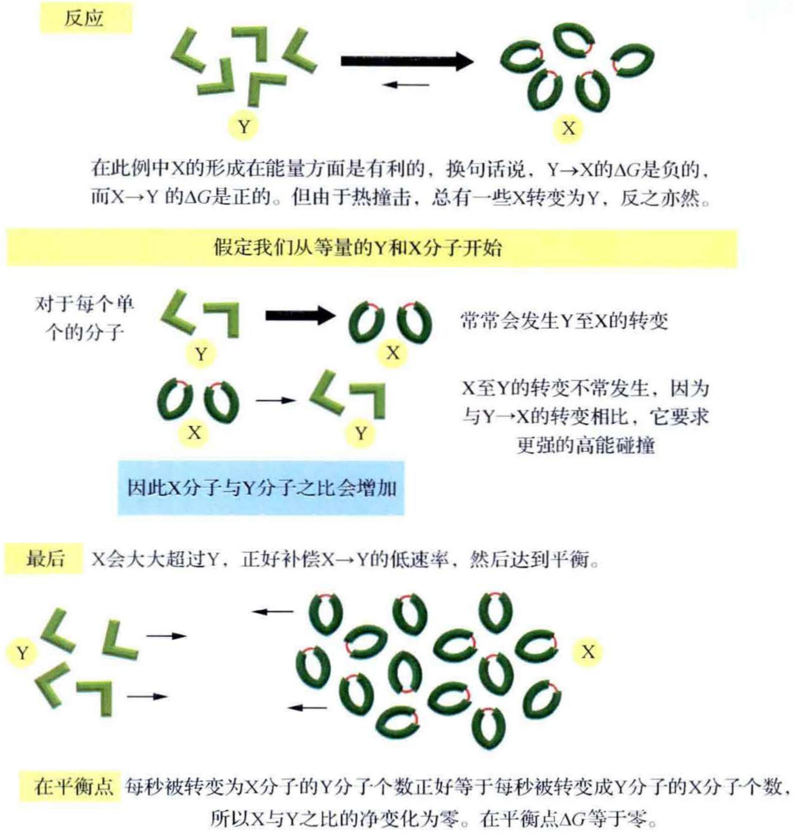


图 3-18　反应最终将达到化学平衡。一个反应达到平衡时，反应分子的正向流量和反向流量大小相等，方向相反。

活的细胞避免达到这种平衡的状态，这是因为它们持续地与环境交换物质：摄入营养物同时排除废弃物。在细胞中复杂代谢网络的许多独立反应都维持在一种不平衡的状态，因为一个反应的产物会持续地变为随后另一个反应的反应物。很少有产物和反应物能够达到使正向反应和反向反应速率都相同的浓度。

3.2.6　平衡常数直接与 ΔG° 成比例

就如我们已经看到的那样，在化学平衡中当正向和反向反应速率相等的时候，反应物与产物的比例是维持常数不变的。这种状态让我们可以计算一个反应的**平衡常数 *K***：

$$K=[X]/[Y]$$

这里[X]代表了平衡时候产物的浓度，[Y]代表了平衡时候反应物的浓度。这个等式代表了在这个点上，浓度的影响正好与因反应的 ΔG° 所导致的作用相平衡。所以 $\Delta G=0$，没有净的自由能变化以驱动反应往任何一个方向进行（图版 3-1）。

所以，由于　$\Delta G=\Delta G^\circ+RT\ \ln([X]/[Y])$　（见上一页）

在 37℃化学平衡时，此刻 $\Delta G=0$，而 $RT=0.616$，这个等式就变为

$$\Delta G^\circ=-0.616\ \ln([X]/[Y])$$

或 $$\Delta G^{\circ}=-0.616 \ln K$$
我们用更常用的以 10 为底的对数(lg)转化其中的自然对数(ln)，于是我们得到
$$\Delta G^{\circ}=-1.42 \lg K$$
这个等式揭示了 Y 对 X 的平衡比例(用平衡常数 K 来表示)是依赖于分子的内在特性决定的，如 ΔG° 的值所显示的那样(表 3-1)。注意到在 37℃情况下，平衡常数每以 10 为系数变化，在自由能上就有 1.42 kcal/mol 的差别。这样，反应越是能量上有利，在反应达到平衡时就会有更多的产物积累。

表 3-1 标准自由能变化与平衡常数间的关系

平衡常数[X]/[Y]	自由能 X 减去自由能 Y/(kcal/mol)
10^5	−7.1
10^4	−5.7
10^3	−4.3
10^2	−2.8
10	−1.4
1	0
10^{-1}	1.4
10^{-2}	2.8
10^{-3}	4.3
10^{-4}	5.7
10^{-5}	7.1

用正文中的方程计算简单化学反应 Y⇌X 得到的平衡常数值。

在这里的 G° 是 37℃时每摩尔的千卡数。正如正文中所解释的，ΔG° 表示标准条件下(全部组分均为 1.0 mol/L 的浓度)自由能的变化。

从这张表中，我们可以看到对于 Y→X 转换，如果有−4.3 kcal/mol 的自由能改变，那么 X 状态的分子数就是 Y 状态分子数的 1000 倍。

3.2.7 在复杂反应中，平衡常数取决于所有反应物和产物的浓度

我们已经讨论了最简单的反应 Y→X，一个单独的反应物转化为一个单独的产物。但是在更常见的情况下，两个反应物结合成单独一个产物的时候，即 A+B⇌AB 时会发生什么呢?

这里除了平衡常数 K 取决于反应物和产物二者的浓度外，采用的是同样的原理：
$$K=[AB]/[A][B]$$
两个反应物的浓度都加倍，因为产物 AB 以产生依赖于 A 和 B 的碰撞，而它们的相遇概率与[A]×[B]成比例的。如单一反应物、产物的反应那样，在 37℃情况下，$\Delta G^{\circ}=-1.42 \lg K$。

3.2.8 平衡常数指示分子相互作用的强度

自由能变化的概念并不仅适用于共价键被破坏和形成的化学反应过程，而且对于一个分子和另一个分子之间的非共价键结合也适用(见第 2 章)。这些类型的相互作用对于细胞来说至关重要。它们包括了底物和酶的结合、基因调控蛋白和 DNA 的结合以及一个蛋白质和另一个蛋白质结合以组成结构和功能上不同的蛋白质复合体，进而构建形成一个活细胞。

当两个分子之间相互作用的 ΔG° 为负数的时候，它们会互相结合；也就是说，形成复合体的自由能比两者没有结合在一起的时候各自的自由能之和要更低。由于反应的平衡常数直接和 ΔG° 相关，故 K 通常用来计量两个分子之间非共价键结合的强度。这种结合强度的数据是

非常有用的，因为它还能指出这种两个分子之间相互作用的特异程度。

请看图 3-19 中的这个反应，这里分子 A 和分子 B 形成了复合体 AB。这个反应会不断地进行直至达到平衡，在该平衡点上结合事件精密地与解离事件相等；此刻，反应物和复合体 AB 的浓度都能被用于测算平衡常数。

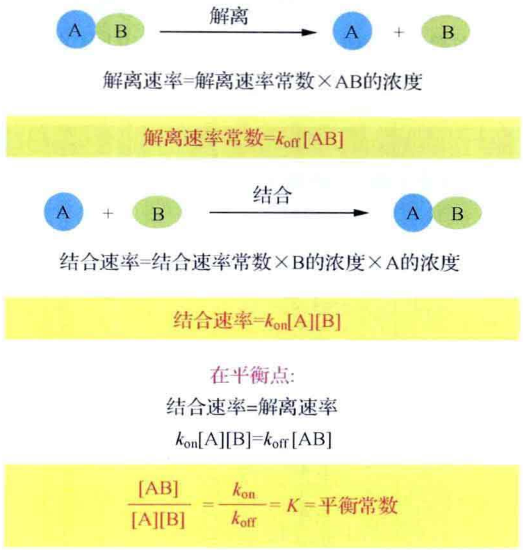


图 3-19　平衡常数反映了相互结合作用的能量。A、B 和 AB 之间的平衡由图示的两个反向的反应之间的平衡所维持。分子 A 和 B 必须相互撞击而产生作用，结合反应速率因而与个体浓度[A]×[B]的积成比例。如图所示，分别代表结合和解离反应的速率常数 k_{on} 和 k_{off} 之比等于反应的平衡常数（K）。对于相互作用的两个组分，K 包括了两个底物和产物的浓度。然而，K 和 ΔG^{o} 的关系与显示在表 3-1 中的一样。K 越大，则 A 和 B 的结合也越强。

结合能量越大，K 也变得愈大——也就是说在结合作用中所释放出的能量增加了。换句话说，K 值越大，在解离和结合状态之间自由能的下降也就越大，两个分子之间结合得也就更加牢固。甚至在一些非共价键中的变化都会在结合作用中有巨大的影响，就如图 3-20 中那样。在这个例子中，将一些氢键从一个结合作用中去除后，导致在达到平衡后产生的复合体的数量有巨大的下降。

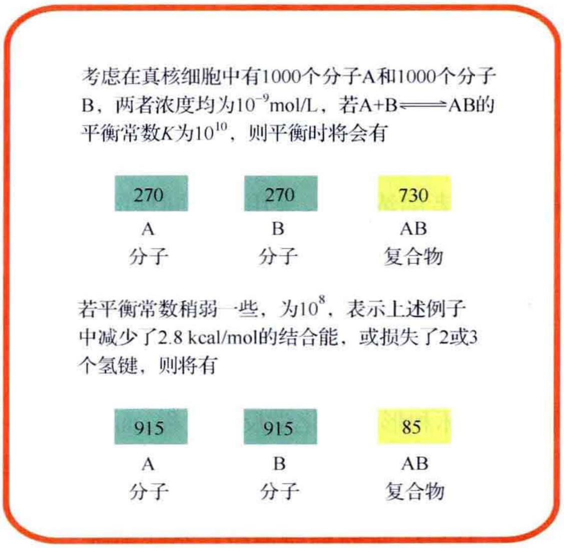


图 3-20　在几个弱键上的小变化能导致结合作用的巨大改变。这个例子证明几个弱键是否的存在在生物学条件下有显著作用。

3.2.9　对于系列反应，自由能的变化是额外的

现在我们转回原来的问题：酶是怎么样催化那些能量不利的反应呢？一条路径是通过直接

偶联一个能量有利的反应与一个能量不利的反应。比如我们考虑下面两个反应，

$$X \rightarrow Y \text{ 和 } Y \rightarrow Z$$

这里的 ΔG° 数值分别是 +5 kcal/mol 和 −13 kcal/mol（回顾一下，1 mol 物质有 6×10^{23} 个分子）。这个能量不利的反应 X→Y 不会自动发生。然而，这个反应会被一个能量有利的反应 Y→Z 驱动，假定第二个反应随着第一个反应发生。这是由于这个偶联反应，总的自由能变化等于每一个独立步骤自由能的总和。在这个例子中，整个偶联反应的 ΔG° 将是 −8 kcal/mol，这会使得这个反应通路能量变得有利。

因此，细胞能够使 X→Y 朝着这种能量不利反应的转化的方向发生。只要一个酶催化反应 X→Y 后面伴随着第二个酶催化 Y→Z 这个能量有利反应就行。事实上，反应 Y→Z 起了一个"虹吸"作用，拉动将所有分子 X 转化为分子 Y 的反应，最终形成分子 Z（图 3-21）。例如，在很长通路中的一些将糖转化为 CO_2 和 H_2O 的反应都是能量不利的。然而不管怎样这些反应都会非常快速地结束，因为对于这一系列反应其整个 ΔG° 是一个很大的负值。

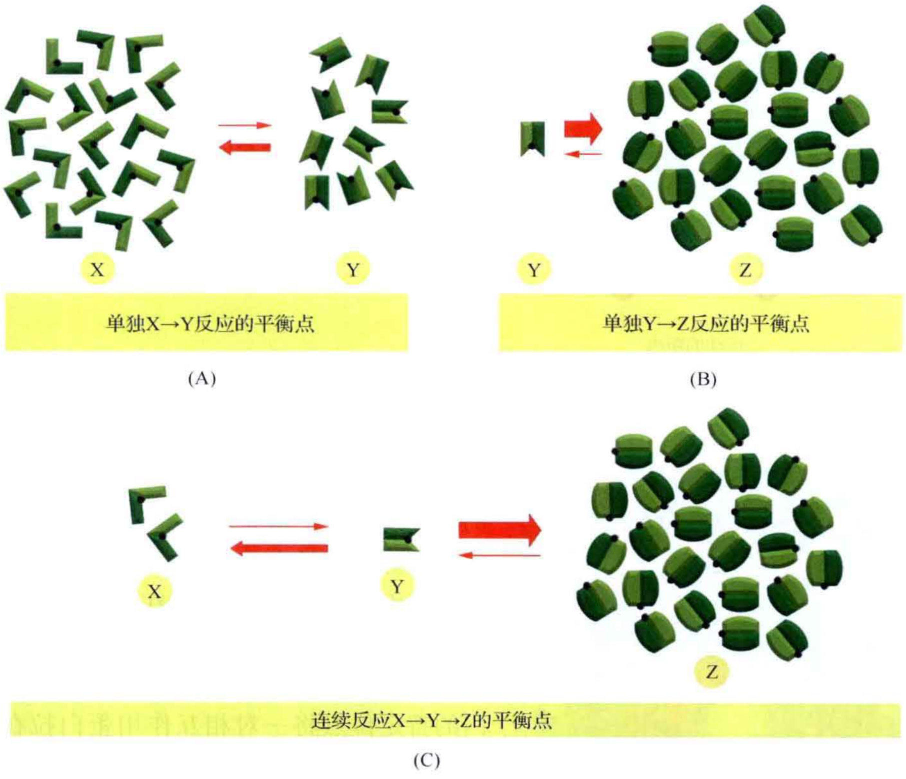


图 3-21　一个在能量方面不利的反应能够被起化学虹吸作用的第二个反应驱动。（A）在平衡点，X 分子数为 Y 分子数的 2 倍，因为 X 比 Y 的能量低。（B）在平衡点，Z 的分子数是 Y 分子数的 25 倍，因为 Z 的能量比 Y 低得多。（C）反应（A）与（B）偶联，正如图中所示，几乎全部 X 分子会被转变为 Z 分子。从能量角度来看，Y→Z 反应的 ΔG° 是如此之负，因此当与 X→Y 反应耦合时，它可降低 X→Y 的 ΔG。这是因为当 Y 与 X 之比下降时，X→Y 的 ΔG 也下降。

然而，形成一系列的顺序反应通路并不能满足所有代谢反应的需求。通常要求的反应是简单的 X→Y，不需要将 Y 转化成一些其他产物。幸运的是，还有其他更为通用的利用酶来偶联反应的办法，包括产生一些活化的载体分子将能量从一个反应位点穿梭运载到另一个位点中。我们将看到这些系统是如何工作的。不过我们将先看看酶是如何遇见它们的底物的以及酶的活性又是如何计量的。

3.2.10 酶如何找到它们的底物：快速扩散的重要性

在细胞内酶及其底物的含量都比较少，而一个典型的酶每秒钟可催化约 1000 个底物分子。这说明它必须在不到 1 ms 的时间内释放它的产物并与一个新的底物分子结合。它们怎么能这样快地相遇呢？

因为在分子层面上运动是极其迅速的，因而快速结合是可能的。由于有热能，故分子能够不断地运动，从而在胞内空间随机漫游——一种称为**扩散**的过程，有效地探查细胞内部空间。通过扩散，胞内每一个分子每秒钟与大量的其他分子碰撞。由于液体中分子互相碰撞及弹回，分子先在一条路线上然后又在另一条路线上运动，它的轨迹构成一种随机漫步(图 3-22)。在这样一种漫游中，从出发点算起每个分子旅行(像牛虻一样)的平均距离正比于所经历时间的平方根，即如果一个分子平均每秒钟运动 1 μm，则它以 4 s 运动 2 μm，以 100 s 运动 10 μm，以此类推。这样的话，在非常短的距离内扩散的效果就会非常好。如果要让分子能在较长距离快速移动，细胞则需要依赖更有效和直接的运输方式——这种过程毫无疑问需要耗费细胞的能量。

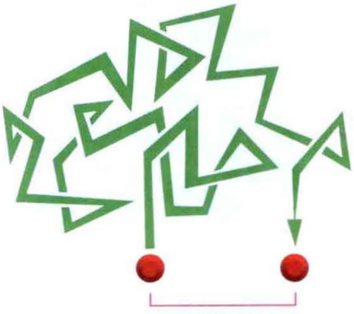


图 3-22 分子在细胞内以随机移动的方式穿行。溶液中的分子由于和其他分子碰撞，不断地受到冲击而以无规的方式运动，这种运动使细胞内的小分子能从一处迅速地扩散到另一处。(视频 3.2)

细胞内部是很拥挤的(图 3-23)。然而，将荧光染料及其他标记分子注入细胞的实验指出，有机小分子在胞质溶胶中扩散就像在水中那样快。例如，一个有机小分子平均1/5 s左右就扩散 10 μm 的距离。因此扩散是小分子在细胞内移动有限距离的一种有效的方式。

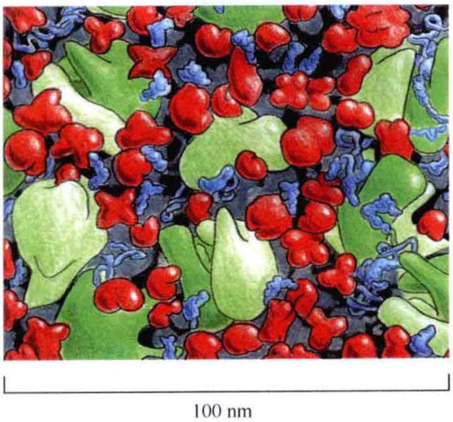


图 3-23 细胞质中挤满了各种分子。画中的比例是近似的，只显示了大分子：RNA 以蓝色表示，核糖体以绿色表示，蛋白质以红色表示。酶及其他大分子在细胞质中扩散得比较慢，其部分原因是由于它们与许多别的大分子相互作用着；与此相反，小分子近乎在水中那样快速扩散。(引自 D. S. Goodsell, *Trends in Biochem Sci*, 1991, 16: 203～206)

然而，酶和其他大分子在细胞质中要比小分子移动得慢很多。在某些情况下，细胞中的酶与其相互作用的蛋白质离得很近，通过脚手架蛋白在细胞内的特定位点将一对相互作用蛋白拉在一起。不过即使它们没有在一处地方被物理性地隔离开，酶移动的速度也要比小分子慢得多。我们可以设想它们是停留着的。所以每一个酶分子与底物分子相遇的概率取决于底物分子的浓度。例如，有些含量丰富的底物在细胞内其浓度达 0.5 mmol/L。由于纯水的浓度是 55 mol/L，因此细胞内约每 10^5 个水分子会有一个这种底物分子。然而，一个酶分子上可与这个底物结合的活性部位每秒钟会受到这个底物 50 万次随机碰撞的冲击。若底物浓度降至 1/10(0.05 mmol/L)，碰撞次数则降至 5 万次/s，以

此类推。一个酶分子表面与其底物分子的匹配表面之间的随机碰撞经常导致形成立刻可以反应的酶-底物复合物。形成或破坏一个共价键的反应可以极快地发生。一旦人们理解了分子运动及反应有多么快，观察到的酶催化速率就不显得那么令人惊奇了。

一旦酶与底物发生了碰撞并在活性部位密切吻合，它们相互之间就形成多个弱键，一直维持到随机热运动引起分子再次解离为止。这些弱的相互作用包括氢键、范德华力和电子吸引力(在第 2 章中讨论)。一般来说，酶与底物结合得愈强，它们解离的速度愈慢，这方面本章的前半部分中已讨论过。当两个碰撞分子没有很多的匹配表面时，非共价键形成得很少，且它的总能量与热运动能量相比可忽略不计，在这种情况下这两个分子一会合便马上迅速解离(图 2-32)，这样就防止了不匹配分子之间如一个酶与错误底物之间的不正确或不需要的结合。

3.2.11 V_{max}和 K_M 计量酶的活性

为了催化一个反应，一个酶首先必须和它的底物结合。然后，这个底物进行一个反应来形成产物，该产物最初会结合在酶上。最终，产物会离开并扩散出去，让酶去和另一个自由的底物分子结合并催化另一个反应(图 3-15)。不同反应步骤之间的速率会因酶的不同而差别很大，可以将纯化的酶与底物在非常确定的环境下混合而进行计量。

在这些实验中，当底物的浓度从一个非常低的值逐步增加时，酶-底物复合物的浓度，即产物形成速率，最初以直接与底物浓度成比例的线性方式增长。然而，当越来越多的酶与底物结合后，该增长速率就逐渐降低，直到在底物浓度非常高时，它达到一个最大值，即 $\mathbf{V_{max}}$。此刻，所有酶分子的活性位点都被底物完全占据，产物形成的速率仅依赖于底物分子到底能多快地被加工了的速率。对于许多酶来说，这个**转换数**是每秒钟 1000 个底物分子，尽管 1～10 000 的转换数都被测到过。

使酶有效地进行反应的底物浓度通常以另外一个指标，即 Michaelis 常数 $\mathbf{K_M}$来表示。该常数以一个发现这一关系的生化学家的名字来命名。一个酶的 K_M 是达到最大反应速率一半时候的底物浓度(0.5 V_{max}，图 3-24)。总体来说，一个比较低的 K_M 表示一个底物和酶结合得非常紧密，而一个大的 K_M 值则代表比较弱的结合。对于讨论我们如何测量这些值，以及如何用它们为生物化学通路建立模型，乃至有可能设计更好的催化物，请见“我们如何得知”。

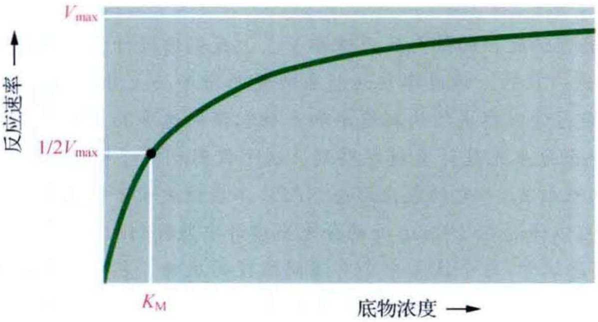


图 3-24 一个酶的表现取决于它能多快地处理它的底物。 酶触反应速率(V)随底物浓度的升高而增大直到最大速率(V_{max})。此时，酶分子所有的底物结合部位都被占据，反应速率取决于酶表面的催化反应的速率。对绝大多数酶来说，当反应速率达到最大反应速率的一半时的底物浓度(K_M)可直接反映底物与酶结合的紧密程度；较大的 K_M 需要较大量的底物，也就意味着较弱的结合作用。

很重要的一点是，我们认识到当一个酶(或任何催化剂)降低了反应 Y→X 的活化能时，它也同时降低了反向反应即 X→Y 中同样数量的活化能(图 3-12)。正向和反向反应将通过一个酶这个相同的因子来加快速率，而这个反应的平衡点(ΔG^o)保持不变(图 3-25)。

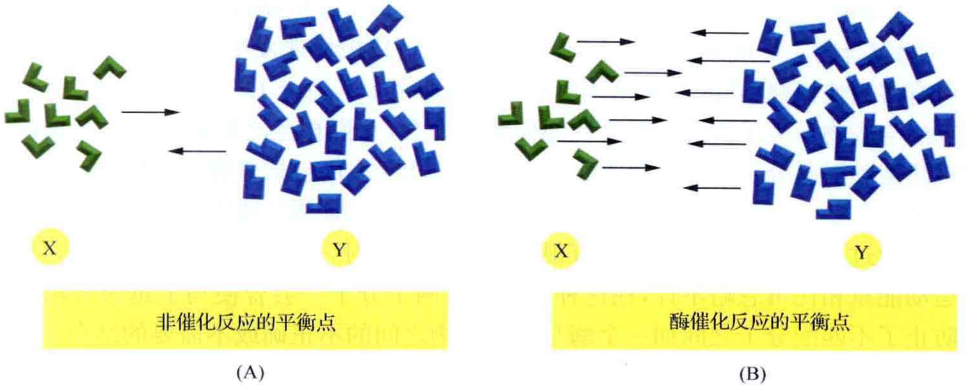


图 3-25 酶不能改变反应的平衡点。酶像一切催化剂那样，以同一因子提高一个反应的正向速率与反向速率。因此，对于这里的催化反应(B)及非催化反应(A)而论，当 Y 分子与 X 分子之比为 3.5∶1 时，进行 X→Y 转变的分子数等于进行 Y→X 转变的分子数。换句话说，这两个反应恰好在同一点上达到平衡。

我们如何得知：使用动力学来模拟和操作代谢途径

乍一看来，细胞的代谢途径好像已经被人们认识得非常清楚了，一个反应进行到另一个反应已被精确地描述，底物 X 转化为产物 Y，其过程通过酶 Z 来催化。那么为什么我们还需要认识一个确定的酶是多么紧密地和它的底物结合呢？或者这个酶在每秒钟内能够处理 100 还是 1000 个底物分子呢？

实际上，这些精巧的代谢图谱仅仅暗示了细胞有可能进行这条通路，如它将营养物转化为小分子、化学能量和组成生命的更大的结构分子。它们并不能精确地揭示细胞是如何在一个特定环境下进行它们的行为的：当细胞饥饿的时候，当细胞吃饱的时候，当氧气缺乏的时候，当受到压力的时候或者当它决定分裂的时候。以下的文章是关于酶的动力学的——它能运作得多快，它如何结合底物，它的活性又是如何被调控的——这使得我们有可能预测出这个独立的催化剂是多么有用及它在一个网络中将如何和其他的酶进行相互作用的。这些知识将帮助我们对细胞生物学有一个更深入的认识和理解，它也将为我们打开一扇门，来认识如何利用酶进行预期的反应。

速率

认识酶是如何工作的第一步包括测定酶对于其催化反应的最大反应速率 V_{max}。我们通过计量一个试管中不同浓度底物情况下该反应速率有多快来完成这一目的。该速率应该随底物量的增加而上升，直到达到该反应的最大反应速率即 V_{max}。这个反应的速率是通过观察底物消耗速率和产物积累的速率而来的。在许多情况下，底物的消耗和产物的生成都可以通过一个分光光度计直接观察到。这个仪器测量了分子在一定波长下吸收光的值；例如，NADH 在 340 nm 波长处吸收光，而它的氧化形态 NAD^+ 不在该波长下吸收光。所以，一个产生 NADH 的反应（通过降低 NAD^+）就可以通过在 340 nm 处的分光光度计中监控到。

为了决定一个反应的 V_{max}，你需要设立一系列的试管，每个试管中含有不同浓度的底物。在每一个试管中，我们加入等量的酶，然后测量反应的速率：有多少微摩尔的底物被消耗或者每分钟产生了多少产物。因为这些数字会倾向于随着时间而降低，所以我们测量的是反应早期的速率。将这些初始的速率数值(v)以底物浓度为横坐标作点图，于是可以得到如图 3-26 所示的曲线。

然而，在这张图中，非常难确定 V_{max} 的具体数值是多少，因为并不清楚反应速率最高会达到多少。为了解决这个问题，我们将数据进行转化，变为它们的倒数，并画在一个“双倒数图”内，这里速率的倒数($1/v$)在 y 轴，底物浓度的倒数($1/[S]$)则在 x 轴(图 3-26C)。于是在这张图上得到了一根直线，其中 y 轴截距(直线与 y 轴交汇的这个点)代表了 $1/V_{max}$，而 x 轴截距代表了 $-1/K_M$。然后，我们可以将这些数值再转化为 V_{max} 和 K_M。

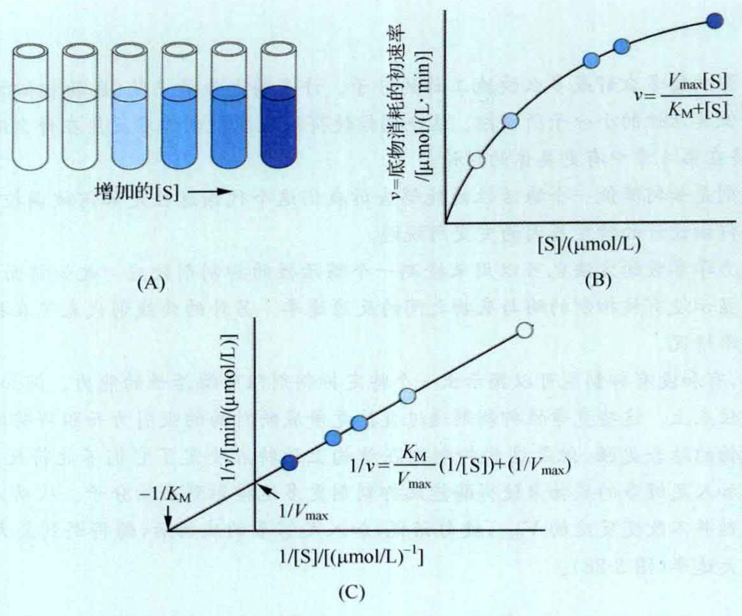


图 3-26　一个酶催化反应的反应速率数据被作图来决定其 V_{max} 和 K_M 值。(A)准备一系列的底物浓度，加上酶，并测量出起始反应速率。(B)以初速率(v)为纵坐标，底物浓度[S]为横坐标作一曲线，用通用的等式 $y=ax/(b+x)$ 来描述。代入动力学术语，这个等式变成 $v=V_{max}[S]/(K_M+[S])$，这里 V_{max} 代表其曲线的渐近线(x 的一个初速率为 y 值)。当 $v=1/2V_{max}$ 时候，K_M 相等于底物浓度。这就称为 Michaelis-Menten 等式(米氏方程)，以证明该酶动力学关系的生物化学家的名字命名。(C)在一个双倒数图中，以 $1/v$ 对 $1/[S]$ 作图。描述上述直线的等式就是 $1/v=(K_M/V_{max})(1/[S])+1/V_{max}$。当 $1/[S]=0$ 时，此时 y 截距 $1/v$ 的大小就是 $1/V_{max}$。当 $1/v=0$，此时 x 截距(1/[S])就是 $-1/K_M$。以这个方法将数据作倒图，可以让我们更精确地计算 V_{max} 和 K_M 的值。按照惯例，小写字母代表变量(这里 v 代表速率)，而大写字母代表常数(如 V_{max})。

酶学家们运用这种技术来决定许多酶催化反应(尽管现在计算机程序可以自动画出图并输出我们需要的数据)的动力学参数。然而，一些反应发生得太迅速了以至于无法用这个方法监控，反应一下子就结束——底物也完全被消耗掉——时间仅在千分之一秒内。对于这些反应来说，必须用一种特殊的仪器才能发现酶和底物开始相遇几微秒内的情况(图 3-27)。

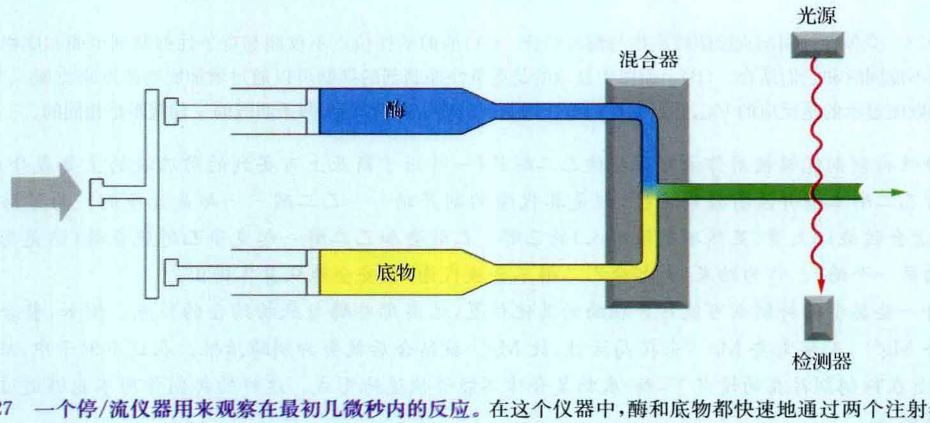


图 3-27　一个停/流仪器用来观察在最初几微秒内的反应。在这个仪器中，酶和底物都快速地通过两个注射器注射入一个混合空间内。当酶和其底物射入混合管时流动的速率能轻易达到 1000 cm/s。然后它们进入另一个试管并移动通过一个检测器，检测产物是否出现。假如这个检测器定位在酶与底物相遇的 1 cm 以内，则有可能观察到它们在几微秒时间内的反应。

调控

底物不是唯一影响酶多么好或多么快地工作的分子。许多酶也能被产物、底物相似物、抑制物、毒素和其他或者增加或降低其活性的小分子所调控。这个调控使得细胞能控制许多反应在什么时候以什么速率发生,这个过程我们将在第 4 章中有更具体的讨论。

确定一个抑制剂是如何降低一个酶活性的能够告诉我们这个代谢途径是如何被调控的,同时也能证明这些调控点如何被仔细设计的特定基因的突变所规避。

我们测量酶动力学参数的方法也可以用来检测一个酶活性的抑制剂效应。就如前面所示的那样,我们可以得到一条曲线显示没有被抑制的酶与底物之间的反应速率。另外的曲线则代表了在抑制剂分子作用下的混合物的反应速率情况。

比较这些曲线,有和没有抑制剂可以揭示出一个特定抑制剂阻碍酶活性的能力。例如,一些抑制剂结合在酶与底物的结合位点上。这些竞争性抑制剂通过直接竞争底物对酶的吸引力而阻碍酶的活性。它们和底物的结合比酶与底物的结合更强,但是这些抑制剂在结构上的特点决定了它们不能将反应物转化为产物。这种阻碍可以通过加入足够多的底物来使得酶能比抑制剂更多地接触到底物分子。从动力学数据中我们可以看到竞争性抑制剂并不改变反应的 V_{max};换句话说,加入足够多的底物后,酶将遇到最大限度的底物分子从而也将达到其最大速率(图 3-28)。

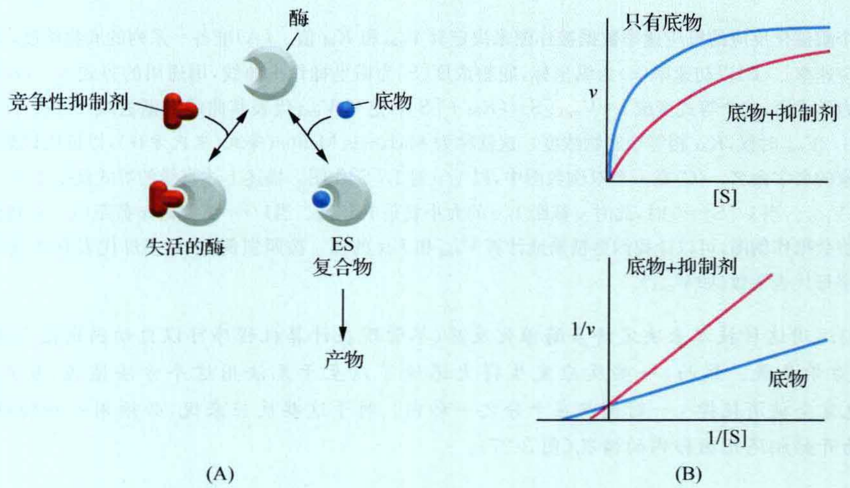


图 3-28 **竞争性抑制剂直接阻碍底物与酶的结合。**(A)酶的活性位点不仅能和竞争性抑制剂也能和底物结合,但是不能同时和它们结合。(B)上面图中显示的是竞争性抑制剂的抑制可以通过增加底物浓度来克服。下面的双倒数图显示的是反应的 V_{max} 并没有在竞争性抑制剂出现后有所改变:两条曲线的 y 轴截距是相同的。

竞争性抑制剂能够被用作治疗那些被乙二醇的(一种用于商业上可买到的防冻液的主要成分)中毒的患者。尽管乙二醇本身并没有致命毒性,但是其代谢的副产物——乙二酸——却是致命的。为了防止形成乙二酸,患者会被施以大量(虽然不是很醉人)的乙醇。乙醇会和乙二醇一起竞争乙醇脱氢酶(这是形成乙二酸途径中的第一个酶)。作为结果,大部分乙二醇不会被代谢,而安全地从身体排出。

另外一些类型的抑制剂可能结合在酶的其他位置,远离那些酶与底物结合的位点。例如,螯合剂能够可逆地结合 Mg^{2+},而酶需要 Mg^{2+} 来提高活性,故 Mg^{2+} 被结合后就会抑制酶活性。在这个例子中,底物能够结合酶,但是在抑制剂存在的情况下,酶-底物复合体不能够快速地形成。这样的抑制作用不能够通过加入更多的底物来解决。

设计

有了动力学数据后，我们可以使用建模来预测一个酶的特性以及一个细胞在不同情况下将会有什么反应，如在培养基中加入特定糖或氨基酸，或者加入一个毒物或污染物时。观察细胞是如何利用它们的资源，它们在不同的生物化学挑战下喜欢使用哪个反应途径，将给我们提供可选择的思路，用于设计更好的反应催化剂来应用于医学和商业上的用途(例如，制药或工业废弃物的去毒处理等)。人类采用这些技术，甚至连细菌也可以被改造为能够生产大量靛青(一种染料，原先从植物中提取)，用于把你的牛仔裤变蓝。

一些电脑程序也已经被开发出来以用于分解复杂的反应通路途径。一个这样的程序需要有关单个反应的信息，如酶、底物、产物、抑制剂和其他一些调控分子的速率和浓度。然后，这个程序预测出分子将如何流经这个通路途径，会产生什么产物，在哪里可能出现瓶颈。这个过程就像在平衡一个代数等式，每个碳原子、氮原子、氧原子等都要被适当地考虑。这些仔细的计算让我们有可能以合理的设计方法来操纵一个通路，比如设计通路以绕开瓶颈，除去一个重要的抑制剂，重新定向反应使其适合于生成一个主要产物或者延伸通路途径来产生一个全新的分子。当然这些建模必须在细胞中得到测试和验证，因为不可能所有的预测都如期发生。

制备生产商业用途产品的细胞往往需要利用遗传工程技术将基因(或是有希望的基因)引入细胞，通常是细菌，因为它能够在实验室中被操纵和维持。我们将在第 10 章中对这些方法进行更详细的讨论。将细胞生物学用于商业目的，即使是生产如色氨酸那样简单的氨基酸，都可以形成一个十亿美元的产业。随着更多的基因组数据的出现，我们将发现更多的酶。从顾客定制的一大桶细菌中得到药物和化合物的日子已经不会太远，那可是价值等同于纯金的生物制品！

3.3 活化的载体分子与生物合成

由食物分子氧化所释放的能量在其被用于构建细胞所需要的其他有机小分子和更大更复杂的分子以前，必须被暂时储存起来。在大多数情况下，这种能量是以一小组活化“载体分子”中的化学键能形式储存着的，这种活化载体分子内有一个或多个高能共价键。这些分子在细胞内快速扩散，因此把它们的键能从产生能量的部位携带到将能量用于**生物合成**的部位及其他需要能量的细胞活动中(图 3-29)。

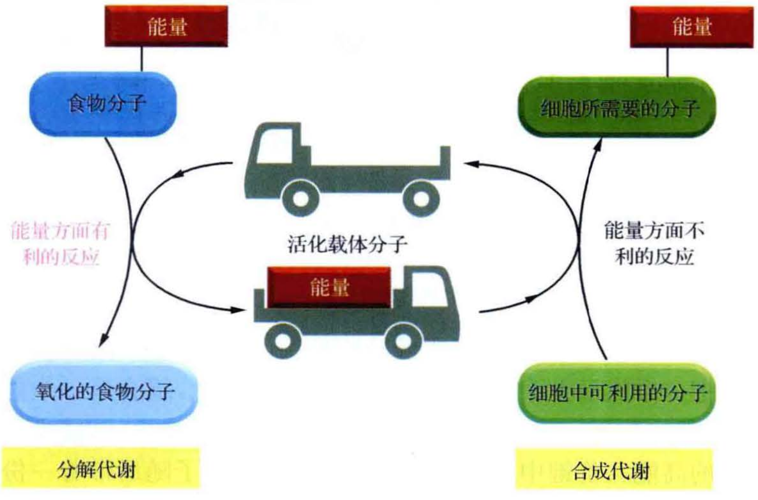


图 3-29　活化载体可储存和转移代谢中所需的能量。活化载体分子通过充当短程穿梭工具起着中间人的作用。它们把食物分子的降解及能量释放(分解代谢)与需能的大大小小有机分子的生物合成作用(合成代谢)联系起来。

活化载体以一种易被交换的形式储存能量，这类形式可以是一种易于转移的化学基团或是高能电子，它们在生物合成反应中起双重作用，既是能源又是化学基团的来源。最重要的活化

载体分子是 ATP 及两种互相密切相关的分子 NADH 及 NADPH。细胞利用活化载体分子就像为反应付钱一样。不“付钱”,反应就不能发生。

3.3.1 一个活化载体的形成与一个能量方面有利的反应相耦合

当细胞内一个燃料分子如葡萄糖被氧化时,酶催化的反应保证由氧化作用释放的大部分自由能以化学上可被利用的形式被捕获,而不是以热的形式释放而浪费掉(在细胞内燃烧糖可以驱动你体内的代谢反应,而在大街上燃烧一块巧克力则对你毫无用处。从能量角度来说,它并不产生任何有用的代谢能量)。在活的生物系统内,能量获取是通过**耦合反应**的方法实现的,在耦合反应中一个在能量方面有利的反应用于驱动一个能量方面不利的反应,后者产生一个活化载体分子或其他一些有用的分子。耦合机制需要酶,并且是细胞一切能量转换的基础。

耦合反应的性质以一种机械的比喻在图 3-30 中显示。图中一个能量方面有利的化学反应用悬崖上滚下来的岩石表示。当岩石冲击地面时经摩擦作用产生热,下落着的岩石的能量通常会以热的形式完全被浪费掉(图 3-30A 中下落着的砖块)。然而,经过精心设计,这种能量的一部分可用于驱动一个叶轮提升一桶水(图 3-30B),因为岩石现在只有在转动叶轮后才能抵达地面,我们说岩石下落这样一个能量方面有利的反应已被直接耦合至提升一桶水这样一个能量方面不利的反应。注意,因为部分能量在(B)中被用来做功,故与(A)中情形相比,岩石以较小的速度冲击地面,从而以热的形式浪费较少的能量。这样节省的能量就可以被用作有用的功(图 3-30C)。

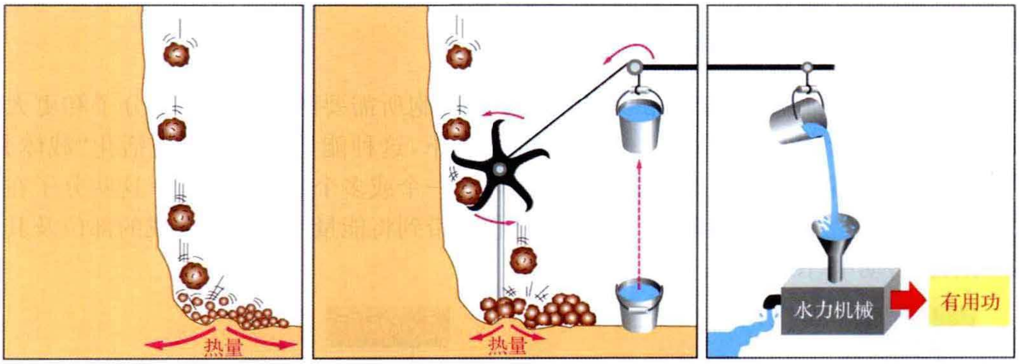


图 3-30 说明耦合反应的一个机械模型。(A)中的自发反应可以模拟葡萄糖直接氧化成 CO_2 及 H_2O,它只产生热。在(B)中同一个反应与第二个反应耦合,这第二个反应可用来模拟活化载体分子的合成作用。(B)中产生的能量形式比(A)中产生的更有用,并可用来驱动各种原本在能量方面不利的反应(C)。

完全类似的过程出现在细胞中,那里酶起着上述例子中叶轮的作用(图 3-30B)。运用我们将在第 13 章中讨论的机制,那些酶把一个能量方面有利的反应,如食物的氧化,耦合至一个能量方面不利的反应,如产生一个活化载体分子。其结果是氧化反应释放的热量减少,其减少量恰好等于储存在这个活化载体分子的高能共价键中的能量。这个活化载体分子随后带着一份足够大的能量再去驱动细胞其他部位上的一个化学反应。

3.3.2 ATP 是用得最广泛的活化载体分子

细胞内最重要且最通用的活化载体是 **ATP**(腺苷-5′-三磷酸)。就像图 3-30B 中那桶提升上

去的水可用于驱动各种水力机械那样，ATP 作为一种方便且多用途的能量储备或能量通货，用于驱动细胞内的各种化学反应。如图 3-31 所示，ATP 是在一个能量方面不利的磷酸化反应中合成的，在此反应中一个磷酸基被加至 **ADP**(腺苷-5′-二磷酸)上。当有需要时，ATP 在一个能量方面有利的水解为 ADP 的反应中释放它的小“包”能量，产生 ADP 和无机磷酸分子。再生的 ADP 可进一步用于另一轮形成 ATP 的磷酸化反应中。

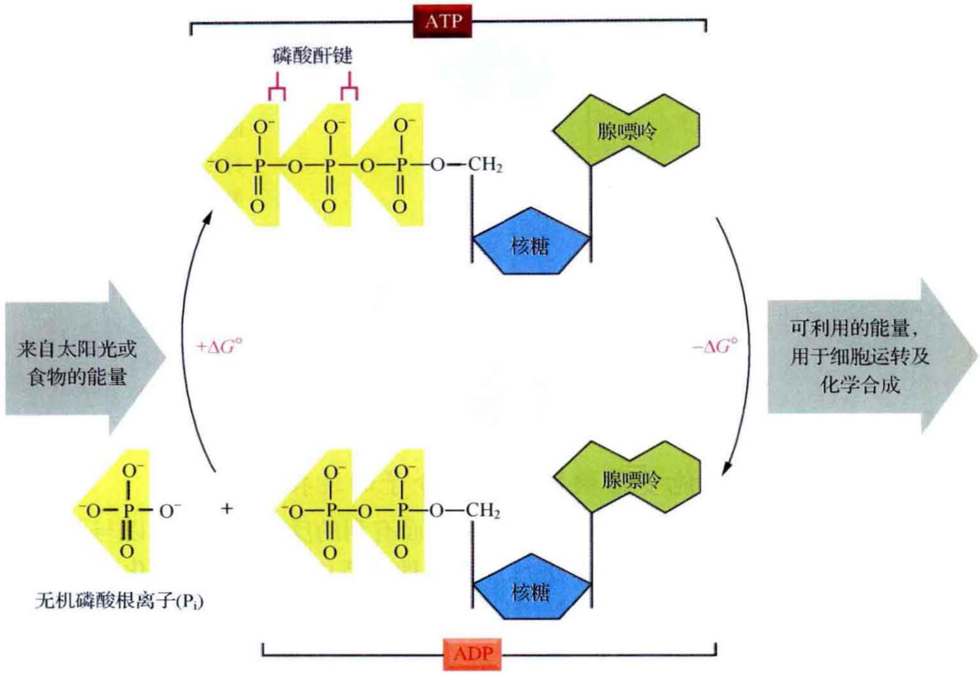


图 3-31 ATP 与 ADP 相互循环转换。ATP 最外端的两个磷酸基经高能磷酸酐键与分子的其余部分连接在一起并且易于转移。水可以加至 ATP 末端以形成 ADP 和无机磷酸基(Pi)。ATP 末端磷酸基的这种水解作用产生 11～13 kcal/mol 的有用能量。尽管该反应的 ΔG° 为－7.3 kcal/mol，其实它的 ΔG 要更加负，因为在细胞内 ATP 与产物 ADP 和 Pi 之比非常高。这个反应的大而负的 ΔG° 值源自几个因素。释放末端磷酸基会消除相邻负电荷之间不利的拒斥作用；同时，释放的无机磷酸根离子(Pi)由于共振以及倾向与水形成氢键而显得稳定。从 ADP 与 Pi 形成 ATP 逆转了这个水解反应。由于这个缩合反应是能量方面不利的，故它必须与一个在能量方面更有利的反应偶联起来才能发生。

能量方面有利的 ATP 水解反应与许多在能量方面不利的反应耦合，通过这些反应合成另外一些分子。我们将在本章中遇到几个这样的反应，看看它们究竟是如何操作的。这样的水解反应经常涉及将 ATP 末端的磷酸基转移至另一个分子，如图 3-32 中所表示的那样。任何涉及转移一个磷酸基团到一个分子上的反应都被认为是一个磷酸化反应。磷酸化反应是一种缩合反应(图 2-25)，在许多重要的细胞功能中存在：它们活化底物，促进化学能量的转换并帮助调控细胞的信号过程。

ATP 是细胞中含量最丰富的活性载体。例如，它为细胞中许多将物质输入或输出细胞的泵提供能量(在第 12 章中具体讨论)；它还驱动分子马达，从而使肌细胞能够收缩以及使神经细胞沿着它们长长的轴突从一端向另一端转运物质(在第 17 章中具体讨论)。为什么进化中选择了这样一个特定的核苷酸而不是其他的分子作为主要的能量携带者？这依然是一个谜。

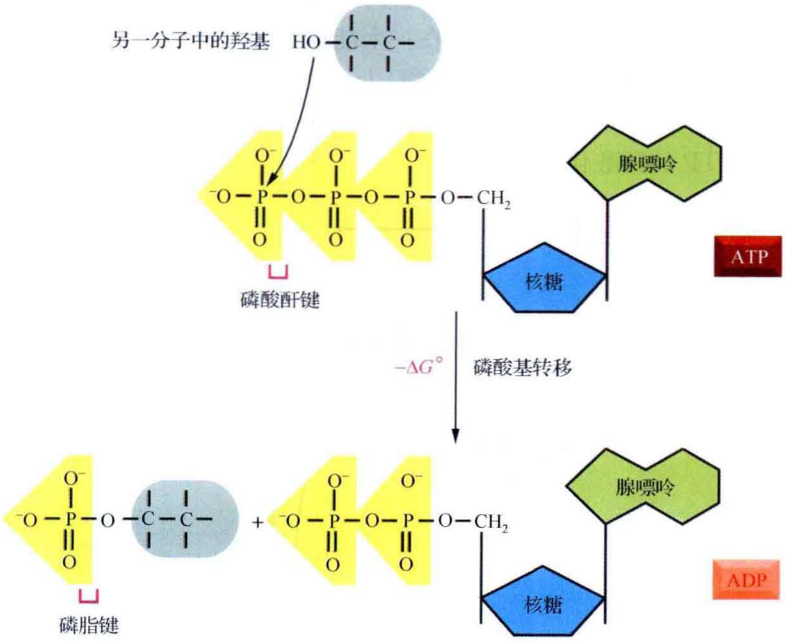


图 3-32　ATP 的末端磷酸基可方便地转移到另外一个分子。由于 ATP 中的一个高能磷酸酐键被转变为一个能量稍低的磷脂键，故这个反应在能量方面是有利的，有一个大而负的 ΔG°。这类磷酸化反应参与磷脂的合成并参与糖分解反应中开头的几步，以及很多其他的代谢反应。

3.3.3　储存在 ATP 中的能量常被用于两个分子的连接

我们在前文中已经讨论过一种途径，其中能量方面有利的反应 Y→Z 可以与一个能量方面不利的反应 X→Y 耦合，从而使后者得以进行。在这种体系内，第二个酶催化能量方面有利的反应 Y→Z，在此过程中将全部 X 转变成 Y（图 3-21），但是如果所需要的产物是 Y 而不是 Z 时，这个作用过程是无用的。

为生物合成所需要的一种常见反应类型是这样的：两个分子 A 和 B，在能量方面不利的缩合反应中连接到一起形成 A-B：

$$\text{A-H}+\text{B-OH}\longrightarrow\text{A-B}+H_2O。$$

将 ATP 水解反应间接地与此反应耦合可使这个反应得以进行。这里来自 ATP 水解的能量首先被用于将 B-OH 转变为一种高能的中间化合物，然后它再直接与 A-H 反应而得到 A-B。最简单的可能作用机制包括将一个磷酸基从 ATP 转移至 B-OH 产生 B-O-PO_3，在这种情况下这个途径只有两步：

1. B-OH＋ATP ⟶ B-O-PO_3＋ADP；
2. A-H＋B-O-PO_3 ⟶ A-B＋Pi。

最后的结果：B-OH＋ATP＋A-H ⟶ A-B＋ADP＋Pi。

缩合反应本身在能量方面是不利的，但在一条酶催化的反应途径中，通过直接与 ATP 水解作用耦合而被强迫进行了（图 3-33A）。

就是这种生物合成反应被用于合成谷氨酸，如图 3-33B 所示。我们将在这章的后面看到很相似（但更复杂）的机制也被用来生产细胞的几乎全部的大分子。

3.3.4　NADH 及 NADPH 是重要的电子载体

另一些重要的活化载体分子参与氧化还原反应，并且是细胞中那些耦合反应的通用部分，专门携载高能电子及氢原子。这些电子载体中最重要的是 **NAD^+**（烟酰胺腺嘌呤二核苷酸）及与其密切相关的分子 **$NADP^+$**（烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸）。NAD^+ 及 $NADP^+$ 各自拾取一

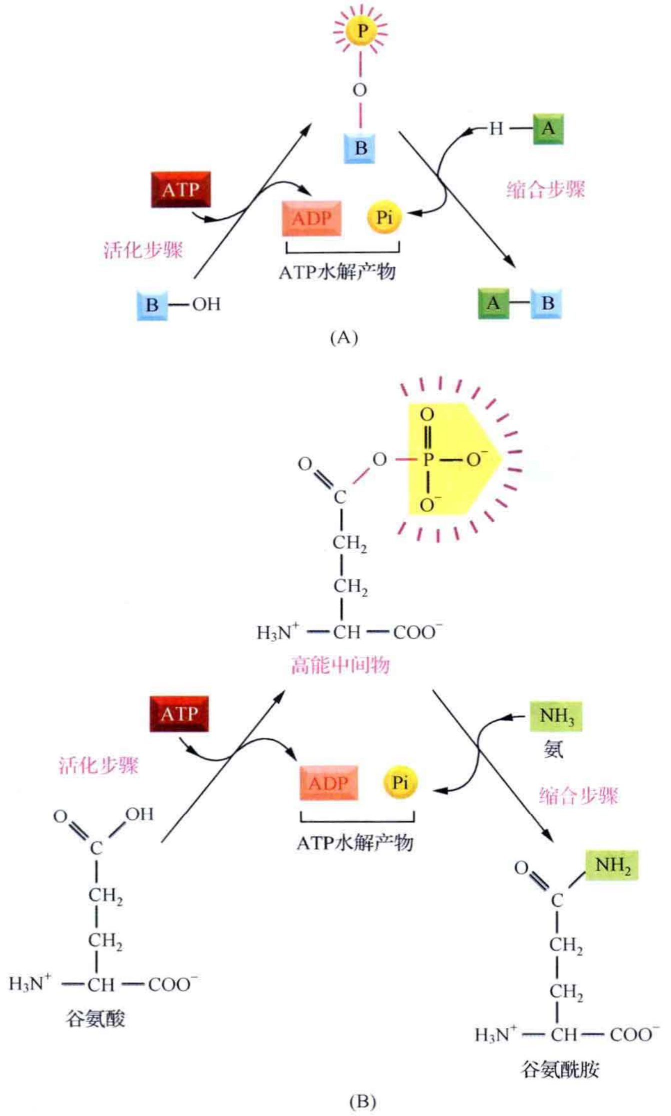


图 3-33 ATP 水解驱动一个在能量方面不利的反应的例子。(A)正文中描述的在缩合反应中形成 A-B 的模式图。(B)谷氨酰胺的生物合成。谷氨酸首先转变为高能的磷酸化中间物(对应于正文中描述的化合物 B-O-PO_3),然后它与氨(对应于 A-B)反应形成谷氨酰胺。在这个例子中此两步都在同一个酶即谷氨酰胺合成酶的表面上进行。注意,为求简明,氨基酸侧链以它们的非电离形式表示。ATP 水解能驱动这样一个能量方面不利的反应,因为它产生更多的能量(其 ΔG^o 为 −7.3 kcal/mol),相应要比从谷氨酸加 NH_3^- 基合成谷氨酰胺所消费的能量(ΔG^o 为 +3.4 kcal/mol)更多。

"包"能量,相当于两个高能电子加上一个质子,分别变成 **NADH**(还原的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸)及 **NADPH**(还原的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸)。因此这些分子也可以被看作是氢阴离子(氢离子加两个电子)的载体。

NADPH 是一种活化载体,与 ATP 类似,它参与许多重要的能量方面不利的合成反应,NADPH 由图 3-34 中的简略流程图形成。在一组特殊的产能催化反应中,一个氢原子及两个电子从底物分子上移走,加到 $NADP^+$ 的烟酰胺环上形成 NADPH。这是一个典型的氧化还原反应,底物被氧化而 $NADP^+$ 被还原。

NADPH 所携载的氢阴离子随即在一个底物氧化还原反应中被释放出来。因为没有氢阴离子,烟酰胺环可实现一种更稳定的电子分布。在再生 $NADP^+$ 的后续反应中,NADPH 变成氧化态而底物变成还原态,从而完成 NADPH 循环。NADPH 是向其他分子提供其氢阴离子的一种有效供体,这和 ATP 随即转移一个磷酸出于同一原因:在这两个情形中,这种转移伴随着一个大而负的自由能改变。生物合成中利用 NADPH 的一个例子如图 3-35 所示。

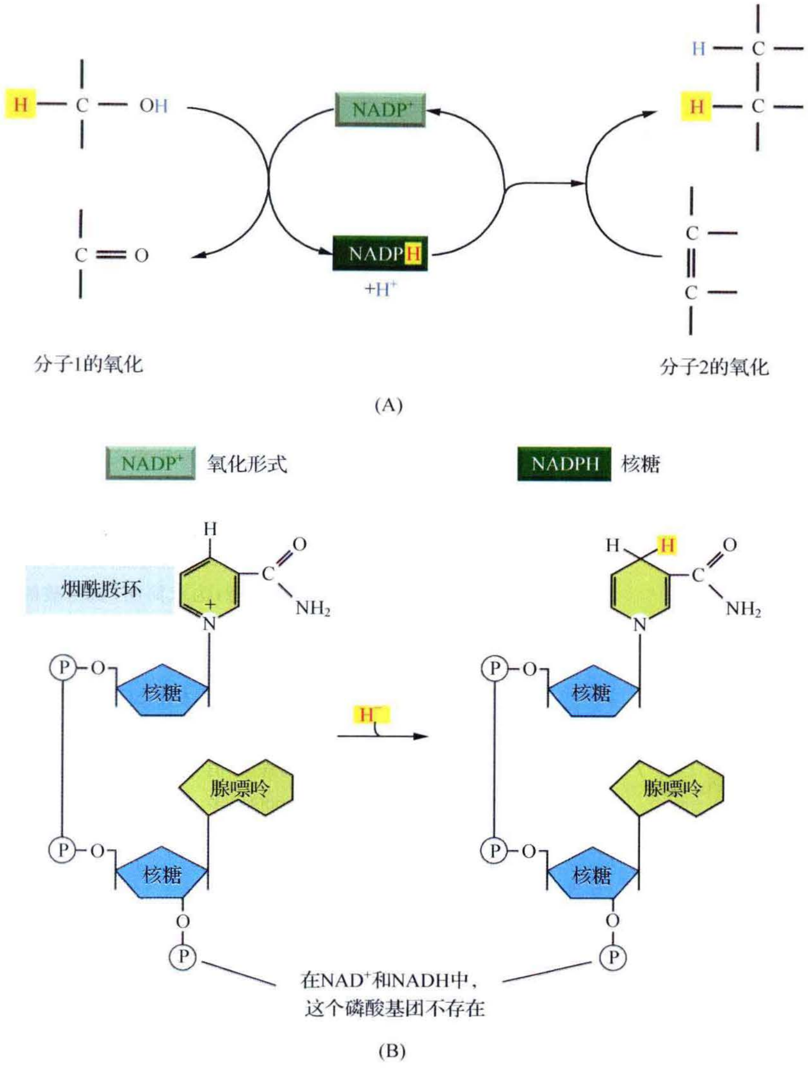


图 3-34 NADPH，一个重要的电子载体。(A)左边以简化形式表示反应中产生的 NADPH，其中底物被移走两个氢原子。载体分子的氧化形式 $NADP^+$ 得到一个氢原子再加一个电子(一个氢阴离子)，源自另一个氢原子的质子(H^+)被释放到溶液中去。由于 NADPH 以一个高能键与氢阴离子结合，所以加上去的那个氢阴离子容易被转移到其他分子上，如图右边所示。(B)$NADP^+$ 及 NADPH 的结构。$NADP^+$ 分子的那个称为烟酰胺环的部分将两个电子及一个质子一起接受下来(相当于一个氢阴离子，H^-)，形成 NADPH。除了两者缺少图中所指出的磷酸基以外，分子 NAD^+ 及 NADH 的结构分别与 $NADP^+$ 及 NADPH 的结构一致。

NADPH 与 NADH 相比较，单独一个磷酸基团的差异对 NADPH 的电子转移性质没有影响，但是对于它们的独特任务却是关键性的。NADPH 上外加的磷酸基团远离涉及电子转移的部位(图 3-34B)，然而，它确实使 NADPH 分子与 NADH 分子在形态上稍显不同，故而 NADPH 及 NADH 可作为底物与不同的酶结合。因此，这两种载体被用来向不同的目标递送电子(或氢阴离子)。

为什么要有这样的分工呢？原因在于这两组电子传递反应需要独立地调节。NADPH 主要与那些催化合成代谢的酶一起运作，提供高能电子用于合成高能生物分子。与之相反，NADH 在分解代谢反应体系中作为中间体而起特殊的作用。如我们在第 13 章中将讨论的，这些氧化反应通过氧化食物分子而产生 ATP，从 NAD^+ 产生 NADH 以及从 $NADP^+$ 产生 NADPH 是通过不同的路径进行的，并且是独立调节的，所以细胞能对这两个相反的目的进行电子供应以进行独立的调整。在细胞中，NAD^+ 对 NADH 的比例保持在高水平，而 $NADP^+$ 对 NADPH 的比例维持在低水平。这样便有了大量起氧化剂作用的 NAD^+ 以及大量起还原剂作用的 NADPH——正如它们各自在分解代谢及合成代谢中所起的特殊作用所需求的那样。

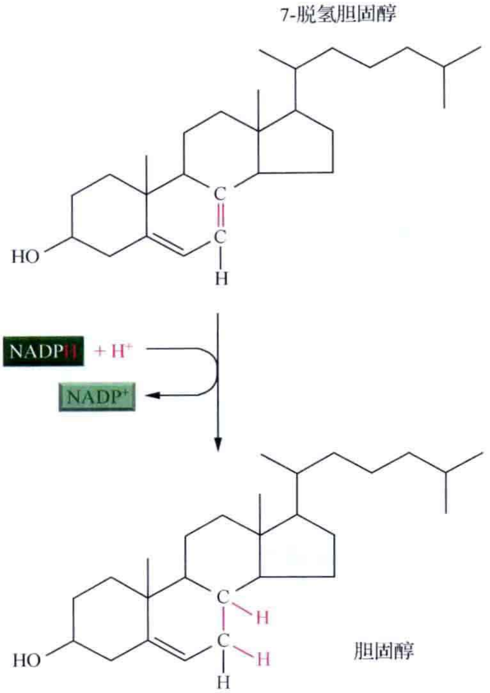


图 3-35 NADPH 参与了胆固醇的生物合成途径中的最后一步。就像其他许多生物合成反应一样，C═C 键的还原是通过从载体分子 NADPH 上转移一个氢阴离子并加上从溶液中得到的一个质子（H^+）而实现的。

3.3.5 细胞内有许多其他活化载体分子

其他活化载体也能以形成容易转移的高能键的形式携载某种化学基团（表 3-2）。例如，$FADH_2$，它与 NADH 和 NADPH 一样都能携带氢原子和高能电子（图 13-12）。又如，辅酶 A 以一个随时可转移的连接携载一个乙酰基，**辅酶 A** 的这种活化形式称为**乙酰辅酶 A**（乙酰 CoA）。乙酰 CoA 的结构如图 3-36 所示，在较大分子的生物合成中它被用于添加两个碳单位。

表 3-2 新陈代谢中广泛利用的一些活化载体分子

活化载体分子	高能键所载基团
ATP	磷酸基
NADH，NADPH，$FADH_2$	电子与氢
乙酰 CoA	乙酰基
羧化生物素	羧基
S-腺苷甲硫氨酸	甲基
尿苷二磷酸葡糖	葡萄糖

在乙酰 CoA 及表 3-2 的其他载体分子中，可转移基团只构成分子的一小部分。其余部分由一个大的有机部分组成，它起一种便利的“手柄”的作用，使载体分子更容易被特定的酶识别。正如乙酰 CoA 的情况那样，这个手柄部分常常含有一个核苷酸。这个奇妙的现象可能是细胞进化早期阶段的一种遗迹。设想地球上早期生命形式所运用的主要催化剂是 RNA 分子（或是它们的近亲），而蛋白质是后来进化的补充部分（第 7 章）。一个令人感兴趣的推测是我们现在发现的许多载体分子源自一个早期的 RNA 世界，在那里它们的核苷酸部分对于它们与 RNA 酶结合来说曾经是有用的。

除了由活化载体分子 ATP 促成的（磷酸基的转移）及 NADPH 促成的（电子及氢的转移）转移反应外，其他重要的反应可能涉及从活化载体分子转移甲基、羧基及葡萄糖基团用于生物

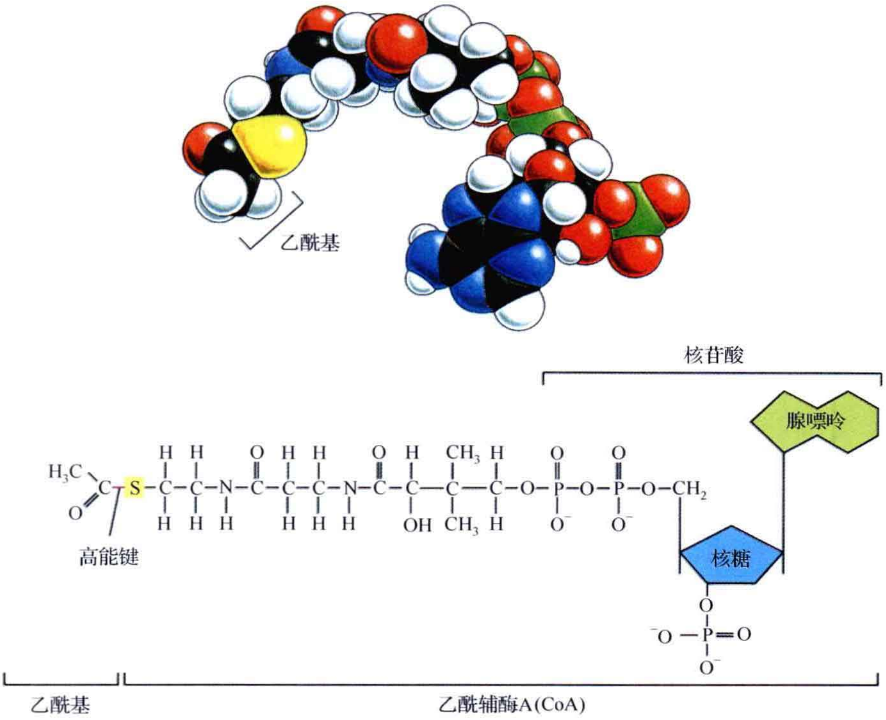


图 3-36　乙酰 CoA 是另一个重要的活化载体分子。在乙酰 CoA 的结构式的上方是一个实体模型。硫原子(黄色)与乙酰形成一个硫酯键。由于这是一个高能键，故当它水解时会释放出大量能量，乙酰 CoA 中的乙酸基团随即被转移至其他分子。

合成的目的。活化载体分子通常是在那些与 ATP 水解耦合的反应中产生的(图 3-37)。因此，

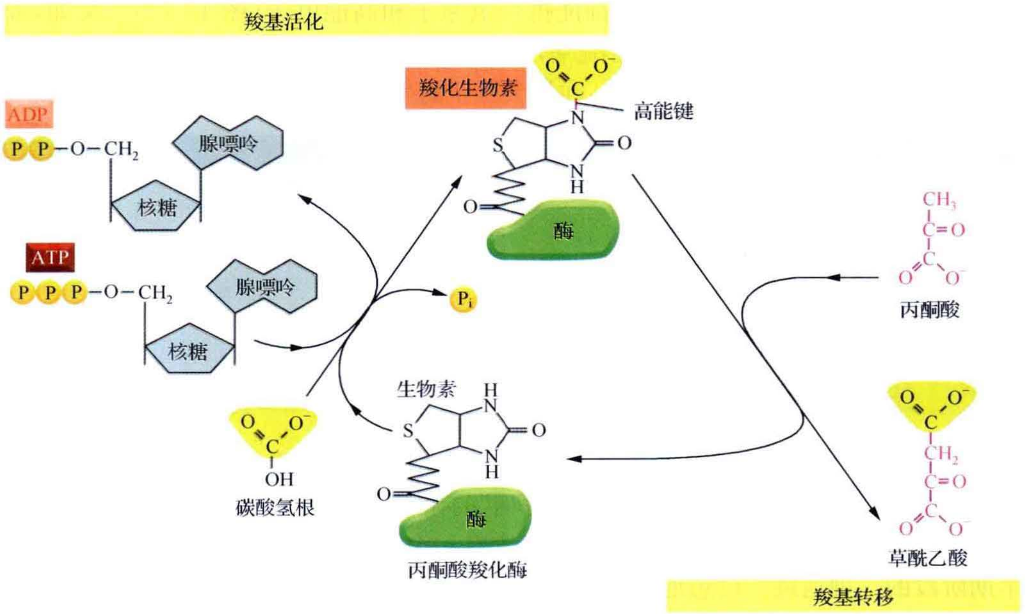


图 3-37　利用一个活化载体分子将一个羧基转移到底物分子上。草酰乙酸是柠檬酸循环所需要的一种分子，在草酰乙酸产生过程中丙酮酸羧化酶利用羧化生物素转移一个羧基。这个转移反应的受体分子是丙酮酸，别的酶利用生物素将羧基转移至其他受体分子。注意羧化生物素的合成要求从 ATP 得到能量——这是多数活化载体的一个普遍特征。

这种能量使它们的基团被用于生物合成，它最终来自于产生 ATP 的催化反应。在合成细胞中非常大的分子——核酸、蛋白质和多糖时也发生类似的过程，我们将在下面讨论。

3.3.6 生物多聚物的合成要求输入能量

细胞的大分子构成其干物质的绝大部分，即不含水的物质。这些分子由亚基（或单体）组成，相互之间由酶催化缩合反应所形成的键连接在一起。其逆向反应——多聚物的分解——则通过酶催化的水解而发生。这种水解反应在能量方面是有利的，而生物合成反应则需要输入能量，而且更为复杂（图 3-38）。

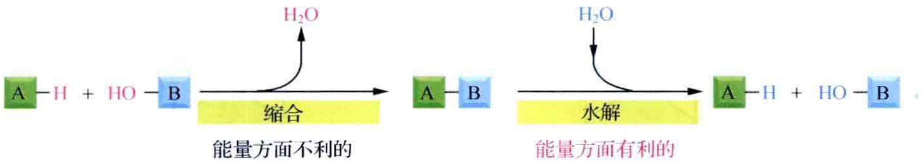
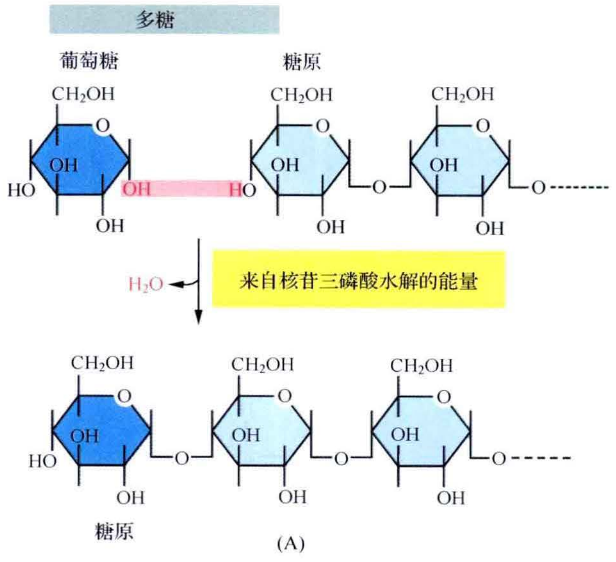
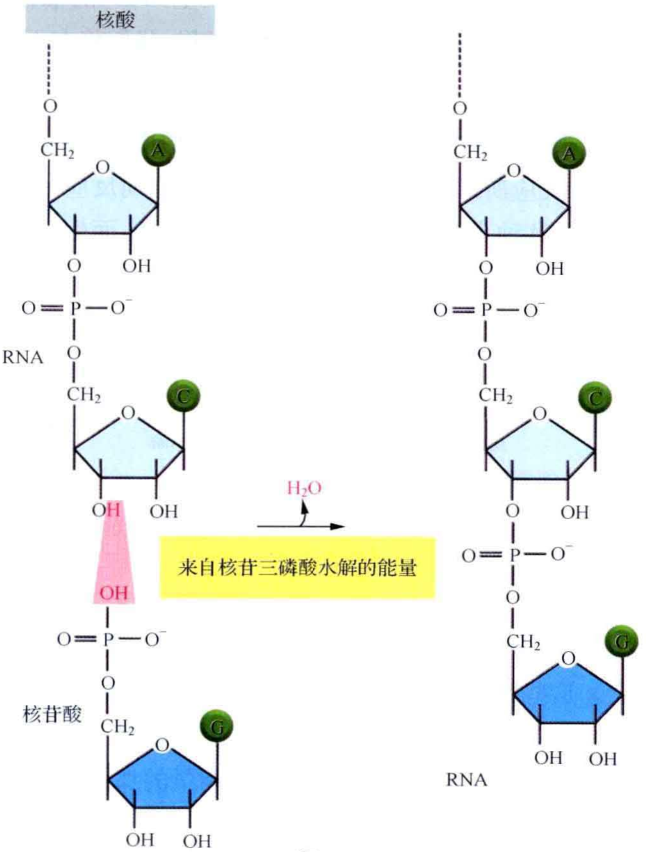


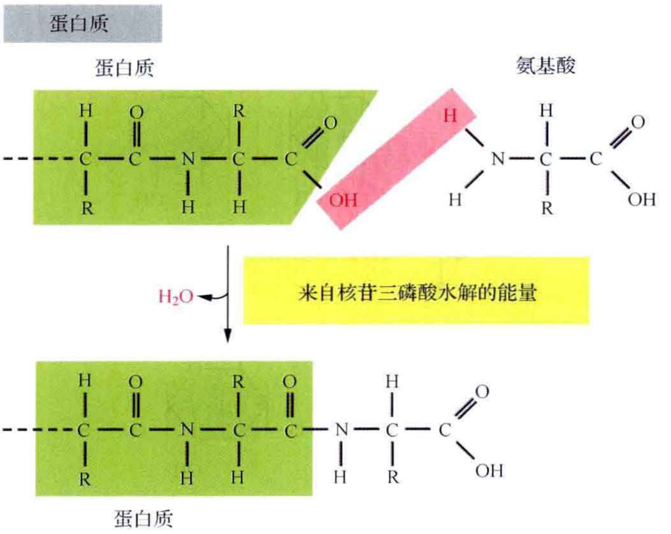
图 3-38 缩合作用及水解作用是相反的反应。细胞的大分子是聚合物。它由亚基（或单体）经缩合反应而形成，经水解作用而分解。所有缩合反应在能量方面都是不利的。

核酸（DNA 和 RNA）、蛋白质和多糖都是聚合物，它们通过在一条生长着的链的一端重复地加上一个亚基而产生。这些类型的大分子的每一种合成模式概略地表示于图 3-39 中。正如已经指出的，每个模式中的缩合反应依赖于来自核苷三磷酸水解的能量。然而，除核酸外，在最终产物分子中并未留下磷酸基团。那么释放 ATP 水解能量的那些反应是如何与聚合物合成作用耦合的呢？





(B)



(C)

图 3-39　**合成大分子需要能量输入。**一个多糖分子(A)、一个核酸(B)以及一个蛋白质的部分合成在此展示。每种情况下生物合成均包括一个缩合反应,参与的原子以粉红色阴影标示。每一个亚基被添加上去之前都需要活化,从而消耗高能核苷三磷酸,此图中没有画出这种消耗。反之,逆反应——这三种聚合物的分解——只是简单地通过加水(水解)而发生。

对于每一种大分子来说，都有一个与前面讨论过的类似于合成谷氨酰胺的酶催化途径（图 3-33）。其原理是完全相同的，即要在缩合反应中被移出的 OH 基团通过与第二个分子形成高能键而首先被活化。然而，将 ATP 水解与蛋白质及多糖合成联系起来的机制，要比用于谷氨酰胺合成的那个机制更为复杂，因为在形成这些大分子的生物合成途径中，一系列的高能中间物产生最终的高能键，而这个高能键在缩合阶段被裂解（在第 7 章中关于蛋白质合成的讨论）。

每一种活化载体在驱动生物合成中的作用有一定的限制范围。例如，ATP 水解为 ADP 及无机磷(Pi)的 ΔG 取决于全部反应物的浓度，在通常条件下一个细胞中的这个 ΔG 值为－13～－11 kcal/mol。原则上，假定有一个合适的反应途径可供利用，则这个水解反应能用于驱动一个能量方面不利的反应，其 ΔG 值可能为＋10 kcal/mol。然而，对于某些生物合成反应来说，即使－13 kcal/mol 可能也还是不够的。在这种情况下 ATP 水解途径可加以改变，使它一开始就产生 AMP 及焦磷酸盐(PPi)，焦磷酸盐本身在一个后续反应中被水解（图 3-40）。整个过程可得到总共约－26 kcal/mol 的自由能变化。核酸（多核苷酸）合成就是以这种方式驱动的一个重要的生物合成反应，如图 3-41 所示。

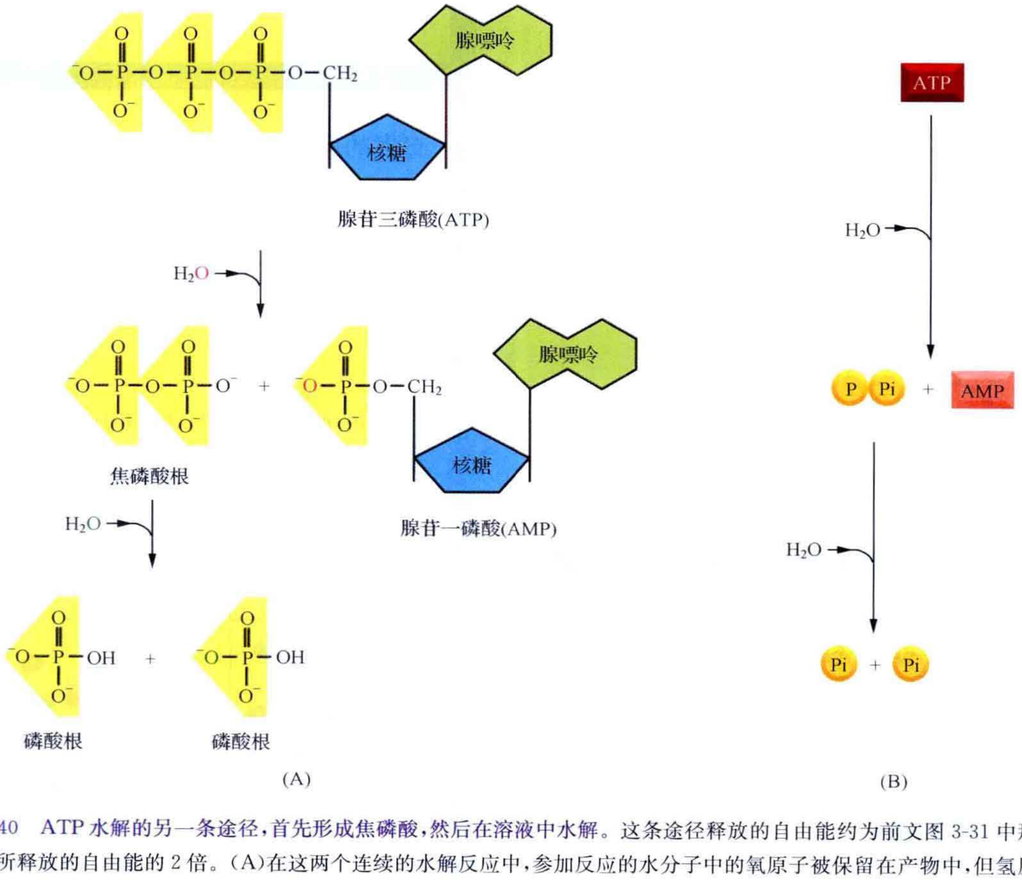
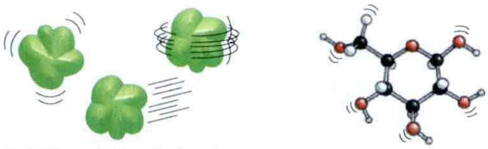


图 3-40　ATP 水解的另一条途径，首先形成焦磷酸，然后在溶液中水解。这条途径释放的自由能约为前文图 3-31 中那个反应所释放的自由能的 2 倍。(A)在这两个连续的水解反应中，参加反应的水分子中的氧原子被保留在产物中，但氢原子解离而形成游离的 H^+。(B)以简明形式表示的总反应。

自由能

这个图版总结了自由能的概念，并且提供了例子说明自由能改变是如何决定生物学反应是否发生以及如何进行的。

一个活细胞的分子具有能量，因为这些分子在空间中振动、转动和平移，并且在各个原子间形成的键中储存有能量。

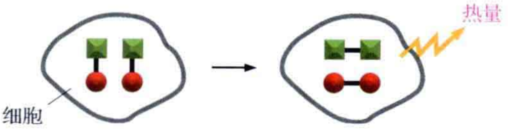


自由能(G)度量一个分子在恒温下(如在活细胞中)原则上可用于做有用功的能量。G的度量单位是kcal/mol。能量也可以用焦耳来表示。1 kcal/mol=4.18 kJ/mol；

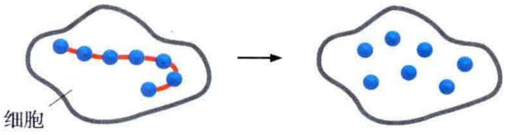
反应导致无序

设想单独一个细胞在恒温和恒定体积下发生一个化学反应。这个反应可用两种方式产生无序。

1 反应物分子键能的变化可引起热释放，扰动环境。

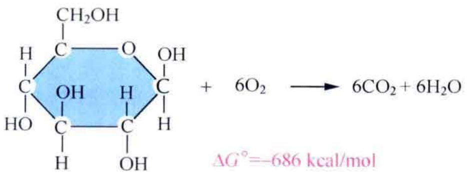


2 反应可降低反应物分子中的有序性，例如，裂解一条分子长链，或破坏一种阻止键转动的连接。



反应速率

一个自发的反应不一定是一个瞬间反应：一个负的自由能变化(ΔG)并不一定自己快速反应。比如燃烧葡萄糖于氧气中：



$\Delta G°=-686$ kcal/mol

即使这是个高度能量有利反应，但若没有酶催化该过程，则几百年也不会发生。酶能催化反应并加快它们速率，但不改变$\Delta G°$

ΔG("DELTA G")

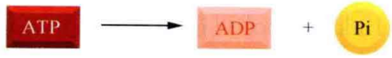
一个反应中发生的自由能变化用ΔG表示，其中"DELTA"指一个差值。因此对于反应：

$$A+B \longrightarrow C+D$$

$$\Delta G=\text{自由能}(C+D)\text{自由能}(A+B)$$

ΔG是这样定义的，它度量由一个反应引起的无序程度：由这个反应引起的细胞中有序性的变化加上由释放的热引起的环境中有序性的变化。

对于生物化学家来说，ΔG 是有用的，因为它度量一个反应离到达反应平衡点距离。因此反应：



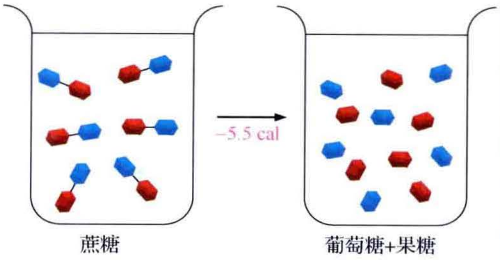
有一个大而负的ΔG，因为细胞通过不断地制造新的ATP而使反应保持在远离平衡态。然而，如果细胞死亡，那么大部分ATP水解直至达到平衡且$\Delta G=0$为止。在这个点上，正向与逆向反应的速率相等，所以不发生进一步的变化。

自发的反应

根据热力学第二定律，我们知道宇宙中的无序程度只能增加。如果宇宙（反应加环境）的无序性增加则ΔG是负的。换句话说，一个自发的化学反应必有负的ΔG

$$G_{产生}-G_{反应物}=\Delta G<0$$

举例：100 mL的10 mmol/L蔗糖和100 mL的10 mmol/L葡萄糖加上10 mmol/L果糖的自由能的差别约为 –5.5 cal。因此，水解反应（蔗糖→葡萄糖+果糖）能自发地进行。



相反，逆反应（葡萄糖+果糖→蔗糖）有一个+5.5 cal的ΔG，若没有来自一个耦合反应的能量输入，则这个逆反应不能进行。

预测反应

为了预测一个反应的结果（它向右还是向左进行？它会停在哪一点？）我们必须测量它的标准自由能变化($\Delta G°$)。这个量表示在“标准”条件（全部分子的浓度为1 mol/L，pH7.0）下，由于1 mol反应物转变为1 mol产物而导致的自由能增加或减少。

一些反应的$\Delta G°$(驱动力)

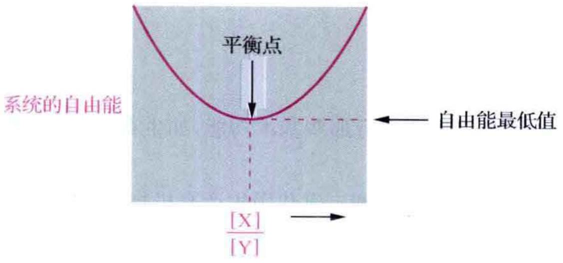
葡萄糖-1-磷酸 ⟶ 葡萄糖-6-酰酸		−1.7 kcal/mol
蔗糖 ⟶ 葡萄糖+果糖		−5.5 kcal/mol
ATP ⟶ ADP+Pi		−7.3 kcal/mol
葡萄糖+6O_2 ⟶ 6CO_2+6H_2O		−686 kcal/mol

化学平衡

一个反应的标准自由能变化$\Delta G°$与它的平衡常数K之间有一个确定的关系。例如，可逆反应

$$Y \rightarrow X$$

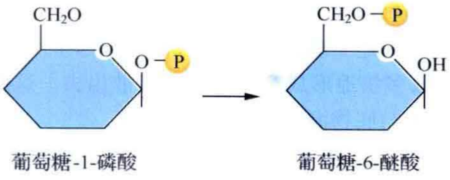
会一直进行到浓度[X]/[Y]=K(注意我们用[]表示浓度)。在这一点，体系的自由能会有它的最低值。



在37℃时，　$\Delta G°$-1.42 $\log_{10}K$　（见本文第3.2.6节）

$$K=10^{-\Delta G°/1.42}$$

例如，对于反应



有$\Delta G°$= −1.74 kcal/mol，因此，它的平衡常数

$$K=10^{(1.74/1.42)}=10^{(1.23)}=17$$

所以当[葡萄糖-6-磷酸]/[葡萄糖-1-磷酸] = 17时，这个反应达到稳态。

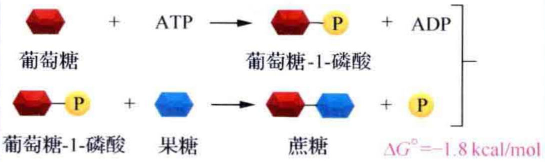
耦合反应

如果一些反应共享一个或几个中间物，那么它们可以耦合在一起。在这种情况下，总的自由能变化就是各个$\Delta G°$值之和。由于这个原因，一个在能量方面不利的反应（有正的$\Delta G°$值）可以被另一个能量方面有利的反应所驱动。

单个反应：

最后结果：　不会发生！

耦合反应：

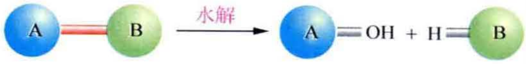


ATP ⟶ ADP + P　$\Delta G°$=−7.3 kcal/mol

最后结果：　在由ATP水解驱动的一个反应中产生蔗糖。

高能键

细胞内最常见的反应之一是水解，在此反应中一个共价键通过加水而被裂解。



这个反应的$\Delta G°$有时被不严格地称为“键能”。化合物如乙酰磷酸和ATP其水解作用有一大而负的$\Delta G°$，这些化合物被说成有“高能”键。

			$\Delta G°$(kcal/mol)
乙酰 P	⟶	乙酸根 + Pi	−10.3
ATP	⟶	ADP + Pi	−7.3
葡萄糖-6-酰酸	⟶	葡萄糖 + Pi	−3.3

(注意，为求简明，上述各式中省略了水。)

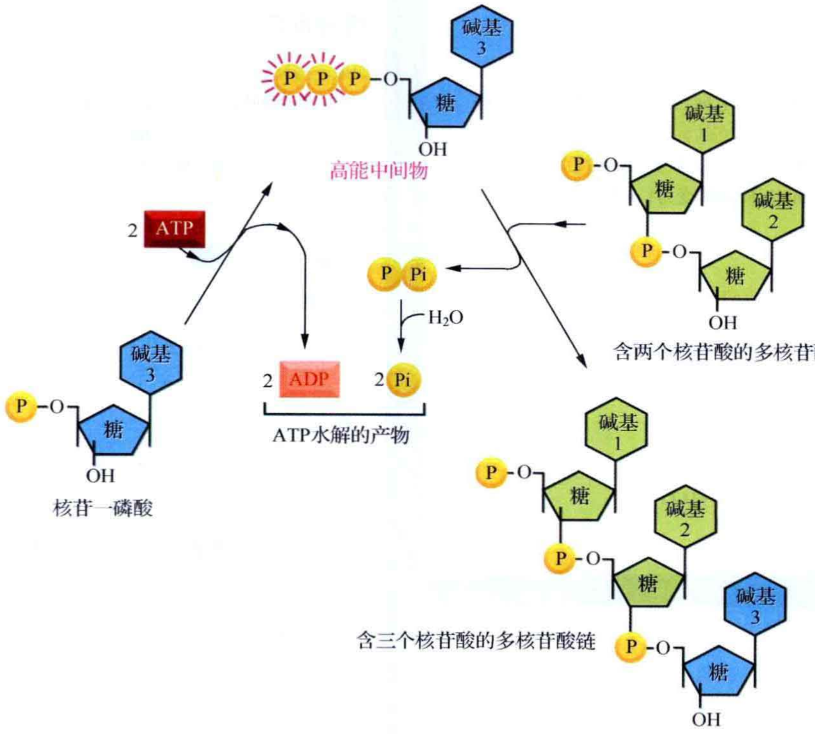


图 3-41 多核苷酸、RNA 或 DNA 的合成是一种由 ATP 水解驱动的多步过程。第一步，取自两个 ATP 分子末端的磷酸根离子相继被转移至一个核苷酸，并使之活化。这样形成的高能中间物——一个核苷三磷酸游离于溶液中，直到它与一个 RNA 或 DNA 链的生长端发生反应并释放焦磷酸为止。后者水解为无机磷酸根离子，这对于在多核苷酸合成方向上推动整个反应是十分有利的。

基本概念

- 生物能够存在是因为有连续的能量输入。这种能量的一部分被用于执行那些基本功能，如生存、生长及繁殖，而其余部分能量则以热形式耗散掉。
- 大多数生物的初始能源来源是太阳。植物、藻类及光合细菌利用太阳能和二氧化碳生产有机物。动物食用植物或食用靠吃植物维持生命的动物而获得养分。
- 在一个细胞中进行着许多化学反应。每一个反应专一性地由一种酶催化。大量不同的酶按次序运作，形成反应链，这称为代谢途径，每一条途径在细胞中执行一个特定的功能。
- 分解反应通过氧化途径分解食物分子并释放能量。合成反应产生许多为细胞所需的复杂分子，但要求能量输入。在动物细胞中合成反应所需要的结构单元及能量都是靠分解代谢而获得的。
- 酶与特定的底物分子结合从而催化一个反应，这种结合降低了为建立或分解特定共价键所需要的活化能。
- 酶催化一个反应的速率取决于它能多快地找到它的底物以及多快地形成产物并将其扩散出去。这些反应的速率在不同酶之间千差万别，能够在一定环境下将纯化的酶与底物混合从而被测量出来。
- 只有那些增大宇宙中总的无序性的化学反应才可能进行。用一个反应的自由能变化，即 ΔG 来度量这种无序性。ΔG 必须小于 0，一个反应才能得以进行。
- 一个化学反应的自由能变化，ΔG，依赖于反应分子的浓度。倘若已知这个反应的平衡常数(K)(或已知这些反应物的标准自由能变化，即 ΔG°)，则可从这些浓度计算 ΔG。
- 平衡反应常数控制细胞中所有大分子和小分子的结合(和解离)。两个分子之间的结合能量越大，其平衡常数也就越大，而这两个分子将很可能会被发现是互相结合的。

- 借助建立一条反应途径，把一个能量方面有利的反应与一个能量方面不利的反应耦合起来，酶可使那些不可能发生的反应得以进行。
- 一小群活化载体分子尤其是 ATP、NADH 以及 NADPH，在耦合事件中起核心作用。ATP 携载高能磷酸基团，而 NADH 及 NADPH 携载高能电子。
- 食物分子为形成大分子提供碳骨架。这些大分子的共价键典型地通过某些反应产生，这些反应与活化载体分子(如 ATP 和 NADPH)由能量有利的键改变这一个现象是耦合的。

关键词

ADP，ATP	催化	呼吸作用	耦合反应	氧化作用
K_M	催化剂	还原作用	平衡	乙酰 CoA
NAD^+，NADH	底物	活化能	平衡常数，K	转换数
$NADP^+$，NADPH	分解代谢	活化载体	熵	自由能，G
V_{max}	光合作用	扩散	生物合成	自由能变化，ΔG
标准自由能变化，ΔG^0	合成代谢	酶	新陈代谢	

问题

问题 3-1 考虑反应：光能$+CO_2+H_2O \longrightarrow$糖$+O_2$，你认为这个反应是只用一个步骤来完成的吗？为什么在这个反应中也产热？解释你的答案。

问题 3-2 下列哪个反应中的黑色原子受到氧化作用？

A. $\mathbf{Na} \rightarrow \mathbf{Na}^+$(钠原子→钠离子)；

B. $\mathbf{Cl} \rightarrow \mathbf{Cl}^-$(氯原子→氯离子)；

C. $\mathbf{C}H_3CH_2OH \longrightarrow \mathbf{C}H_3CHO$(乙醇→乙醛)；

D. $CH_3\mathbf{C}HO \rightarrow CH_3\mathbf{C}OOH$(乙醛→乙酸)；

E. $CH_2=CH_2 \rightarrow \mathbf{C}H_3\mathbf{C}H_3$(乙烯→乙烷)。

问题 3-3 再看文中那个上下簸动的装硬币的盒子(见 3.1 节)。这个反应，即硬币翻动正面朝上(H)或背面向上(T)，由等式 $H \rightleftharpoons T$ 表示，该反应中正向反应和反向反应的速率相同。

A. 在这个模拟中 ΔG 及 ΔG^0 是多少？

B. 发生反应所对应的温度是多少？对应的反应活化能是多少？假定你有一个称为颠簸酶(jigglase)的"酶"来催化这个反应。颠簸酶会有什么效应以及在这个模拟中颠簸酶在力学方面会做些什么？

问题 3-4 仔细看图 3-21 中的反应，画一个类似于图 3-12 中的两个独立的反应和综合反应的能级图。试指出图中反应 X→Y、Y→Z 及 X→Z 的标准自由能变化，指出催化这些反应的酶会如何改变这个能级图。

问题 3-5 碳酸酐酶是已知最高速的酶之一，它催化 CO_2 水化为 HCO_3^-($CO_2+H_2O \rightleftharpoons HCO_3^-+H^+$)。对于有效输运血流中的 CO_2 来说，CO_2 气体快速转变为容易溶解得多的碳酸氢根离子(HCO_3^-)是很重要的。组织中由呼吸作用产生的 CO_2 被输送至肺，再从这里呼出。碳酸酐酶将此反应加速 10^7 倍，其最高速率为每秒水化 10^5 个 CO_2 分子。你认为是什么限制了这个酶的速率？画一个类似于图 3-13 的草图并指出你的图解中哪一部分被设计用于表示这个 10^7 倍的加速作用。

问题 3-6 在细胞中，一个酶能催化反应 $AB \longrightarrow A+B$。然而，也分离到了另一个酶可催化反应 $A+B \longrightarrow AB$。试着解释这种矛盾。

问题 3-7 用图 3-30B 表示下列由 ATP 水解驱动的反应。

$$X+ATP \longrightarrow Y+ADP+Pi$$

A. 在这里，哪一个或哪一些分子可模拟(a)悬崖顶上的岩石，(b)悬崖谷底的碎块，(c)在最高处的吊桶，(d)地面上的吊桶？

B. (a)在图 3-30(A)中没有叶轮时岩石撞击地面可模拟什么以及(b)图 3-30(C)中的水力机器可模拟什么？

问题 3-8 ATP 中将两个磷酸基团连接成一个高能的磷酸酐键有一个 −7.3 kcal/mol(−30.5 kJ/mol)的 ΔG°。这个键的水解释放出 11～13 kcal/mol 的有用能量。怎么会是这样？试想为什么给出的是一个能量范围而不是 ΔG° 的精确数字？

问题 3-9 下列哪一个反应只有在与第二个能量方面有利的反应耦合时才会进行？

A. 葡萄糖 $+O_2 \longrightarrow CO_2+H_2O$

B. $CO_2+H_2O \longrightarrow$ 葡萄糖 $+O_2$

C. 核苷三磷酸 $\longrightarrow$ DNA

D. 核苷酸碱基 $\longrightarrow$ 核苷三磷酸

E. ADP+Pi $\longrightarrow$ ATP

问题 3-10 下列陈述哪一个是正确的？试说明你的答案。

A. 对于酶催化的有些反应来说，若把酶移去，则反应完全停止；

B. 高能电子(如在活化载体 NADH 及 NADPH 中出现的那些)绕原子核运动得比较快；

C. ATP 水解形成 AMP 可提供的能量几乎两倍于 ATP 水解形成 ADP 的能量；

D. 一个部分氧化的碳原子比一个还原程度更高的碳原子的直径小一些；

E. 一些活化载体分子可转移能量及化学基团到第二个分子；

F. 氧化释放能量，而还原需要能量输入，这个规律应用于一切化学反应，而不仅限于在活细胞中进行的反应；

G. 冷血动物在能量方面有一种劣势，因为它们给予环境的热要比温血动物所给予的少，这减弱了它们制造有序大分子的能力；

H. 反应 X→Y 与第二个在能量方面有利的反应 Y→Z 耦合会改变第一个反应的平衡常数。

问题 3-11 试考虑图 3-18 中的反应 X→Y，假设 X 与 Y 之间仅有的区别在于 Y 中有三个氢键而在 X 中却没有。当反应达到平衡时 X 与 Y 之比是多少？你的答案可利用表 3-1 做近似处理，每个氢键的能量相当于 1 kcal/mol(4.18 kJ/mol)。假设 Y 区别于 X 有 6 个氢键，那会如何改变这个比例？

问题 3-12 蛋白质 A 和蛋白质 B 一起形成复合体 AB。一个细胞含有 1 μmol/L 的蛋白质 A，1 μmol/L 浓度的蛋白质 B 及 1 μmol/L 的蛋白质 AB(A 和 B 结合后形成)，并达到平衡。

A. 根据图 3-19，计算反应 $A+B \rightleftharpoons AB$ 的平衡常数。

B. 假如 A、B 和 AB 在达到反应平衡时候的浓度都远远低于 1 nmol/L 的话，那么这时候的平衡常数会是多少呢？

C. 在这低浓度中，需要多少额外的氢键来维持 A 和 B 以使 AB 复合体达到相似比例呢？(记得每个氢键可以提供 1 kcal/mol 的能量)

问题 3-13 讨论下述论点："一个反应的 ΔG 是大于、小于或等于 ΔG° 取决于参加反应的化合物的浓度。"

问题 3-14 A. 若 1 mol 葡萄糖完全被氧化生成 CO_2 及 H_2O 可产生 686 kcal 的自由能，而 1 mol ATP 中的高能磷酸键存在的有用化学能为 12 kcal，则从一个葡萄糖分子最多可产生多少个 ATP 分子？

B. 如我们能从第 14 章(表 14-1)中看到，呼吸作用从 1 mol 葡萄糖分子产生 30 mol 的 ATP。将这个数字与你的上述 A 的答案比较，从葡萄糖产生 ATP 的总效率是多少？

C. 若你身体的细胞氧化 1 mol 的葡萄糖，如果热量不耗散到环境中去(假设你身体有 75 kg 水)，你的体温会升高多少？(回想一下，1 kcal 定义为使 1 kg 水温度升高 1 ℃的能量。1 kcal=4.18 kJ)

D. 若你身体的细胞仅能以 20%的效率转变食物中的能量，其后果是什么？你的身体——按现今的构造——会(a)工作得恰到好处，(b)过热，或(c)过冷冻结？

E. 一个休息着的人每 24 h 约水解 40 kg 的 ATP。欲产生这么多的能量需氧化多少葡萄糖？(提示：查看图 2-23 中的 ATP 的结构，计算它的分子量。H、C、N、O、P 的原子量分别为 1、12、14、16、31)

问题 3-15　一位著名的科学家宣布分离得到的突变细胞能利用1个葡萄糖分子转化出57个ATP分子。你认为这个发现值得庆贺，还是其中可能有误？试说明你的答案。

问题 3-16　在一个简单反应 $A \rightleftharpoons A^*$ 中，一个分子可在两种形式间转变，其标准自由能相差4.3 kcal/mol (18.0 kJ/mol)，A^* 有较高的 $G°$。(A)利用表3-1看看反应达到平衡时 A^* 比A的分子多了多少？(B)若有一个酶将这个反应的活化能降低2.8 kcal/mol(11.7 kJ/mol)，A对 A^* 的比例会如何改变？

问题 3-17　有一个单步骤生物合成途径中的反应，把蘑菇中一个代谢物转化为烈性毒物(代谢物⇌毒物)。这个反应在能量方面非常不利，通常用ATP水解驱动。假设催化这个反应的酶的一个突变阻止它利用ATP，但仍然使它能催化这个反应。

A. 你认为食用这种突变蘑菇会安全吗？假定这个反应处于平衡中，并且储存在ATP中的大部分能量被用于驱动这个不利的反应，那么请估计这种生物会把毒物生产减少到什么程度，你的答案以这个估计为基础。

B. 另一个突变蘑菇中的酶将这个反应与ATP水解作用耦合，但速率仅为原先的1/100，你的答案会有改变吗？

问题 3-18　考虑两个酶的效应。酶A催化反应 $ATP + GDP \rightleftharpoons ADP + GTP$，而酶B催化反应 $NADH + NADP^+ \rightleftharpoons NAD^+ + NADPH$，讨论这些酶是否会有利于或有害于细胞。

问题 3-19　讨论下列陈述："酶和热是相似的，因为两者均能加快反应，那些反应虽然在热力学上是可能的，但因需很高的活化能而未能以合适的速率进行。因此可通过细心地施加热量(如喝热鸡汤)进行治疗的疾病，很可能是起因于某种酶的功能缺陷。"

问题 3-20　图3-25/3-24中的曲线是以标准米氏方程描述的速率 $= V_{max}[S]/([S]+K_M)$。你能否能说服自己在本章中定性描述的特性在这个等式中已精确地表达了出来？特别是这个等式能否在底物浓度是以下情况时进行简化：(A)底物浓度[S]远远小于 K_M，(B)底物浓度[S]等于 K_M，(C)底物浓度[S]远远大于 K_M？

问题 3-21　标准的米氏方程式给出了一个简单的酶反应的速率。速率 $V_{max} = [S]/([S]+K_M)$。若某酶 $V_{max} = 100\ \mu mol/(L \cdot s)$，其 $K_M = 1\ mmol/L$，问速率为 $50\ \mu mol/(L \cdot s)$ 时，底物浓度为多少？画出速率对底物[S]浓度的关系图 $S = 0 \sim 10\ mmol/L$。将此图转换成1/速率对1/[S]，为什么后者为一直线？

问题 3-22　从下列选项中选出正确项，并解释你的选择。若[S]远远小于 K_M，则酶的活性部位大多数被占/未被占。若[S]远远大于 K_M，则反应速率受酶/底物浓度所限。

问题 3-23　A. 由酶E催化的反应 $S \rightarrow P$ 的反应速率是在仅有极少量产物形成的条件下测定的。测得下列数据：

底物浓度/(μmol/L)	反应速率/[μmol/(L·min)]
0.08	0.15
0.12	0.21
0.54	0.7
1.23	1.1
1.82	1.3
2.72	1.5
4.94	1.7
10.00	1.8

据上述资料画一图，运用该图找到该酶的 K_M 和 V_{max}。

B. 回顾前面的"我们如何得知"文章，为了更精确地决定这些数值，一个常用的诀窍就是转换米氏方程，使我们有可能将这些数据画成一直线。一个简单的整理产生

$$1/\text{rate}=(K_M/V_{max})(1/S)+1/V_{max},$$

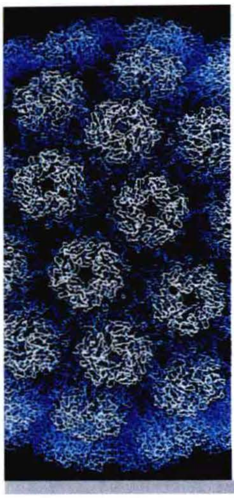
即 $y=ax+b$ 形式的方程式。

计算问题(A)中所给数据的 $1/V$ 和 $1/S$，再绘制 $1/V$ 对 $1/S$ 的新图形。结合直线的斜率，从直线与轴在 $1/S=0$ 处的截距推定 K_M 和 V_{max}。你的结果与根据原始数据绘制的第一幅图所推导的结果一致吗？

C. 注意前述问题(A)，强调在此反应条件下，仅有很少量的产物生成，为何这很重要？

D. 假设酶是受调节的：一旦磷酸化，酶反应的 K_M 成 3 倍地增加，而其 V_{max} 却保持不变。请问这是激活还是抑制？在(A)图和(B)图上绘出你预期的该磷酸化酶的数据。

（徐　沁　译）



4 蛋白质的结构和功能

4.1 蛋白质的形状与结构
4.2 蛋白质如何发挥作用
4.3 蛋白质如何被调控
4.4 如何研究蛋白质

当我们透过显微镜观察一个细胞或分析它的电或生化活性时，我们实质上是在观察蛋白质的劳动成果。蛋白质是构建细胞的结构成分，而且它还是构成细胞内干物质的主要成分。但是除了赋予细胞形状与结构之外，蛋白质还参与几乎所有的细胞功能。**酶**通过提供复杂精细的分子表面来促进细胞内的化学反应，这种分子表面由特定的表面隆起与沟壑所勾勒，能够特异地接受或拒绝特定分子。嵌在质膜中的蛋白质形成泵和通道，控制营养素和其他小分子进出细胞。另一些蛋白质在细胞间传递信息，或者起到信息整合器的作用，将一组信号从质膜传递到细胞核。还有一些蛋白质则参与运动功能，如动力蛋白推动细胞器在胞质中运动；解旋酶可解开双链 DNA 分子。另一些特异的蛋白质则形成抗体、毒素、激素、抗冻分子、弹性纤维或荧光发生器等。在我们想了解基因如何工作、肌肉如何收缩、神经如何导电、胚胎如何发育以及我们的身体如何执行功能等之前，我们必须先认识一下蛋白质。

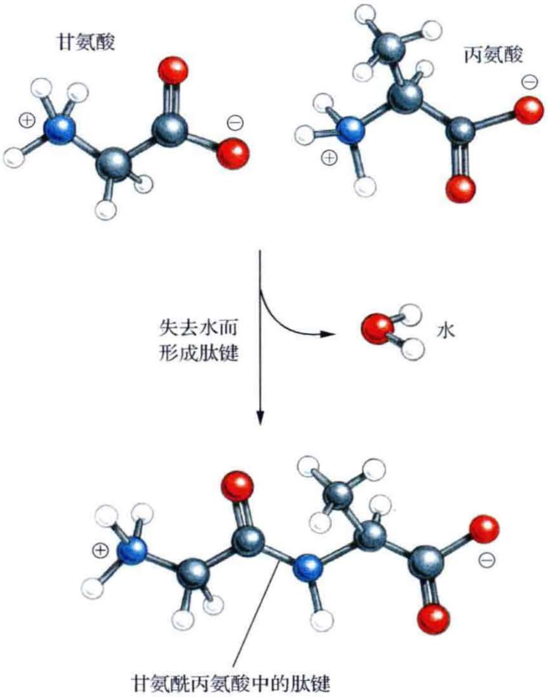


图 4-1 氨基酸通过肽键相连。当一个氨基酸羟基上的碳原子与另一个氨基酸氨基上的氮原子（蓝色）共享电子时，就形成一个共价键。在这个缩合反应中产生一分子水。如图所示，碳原子用灰色标示，氮原子用蓝色标示，氧原子用红色标示，氢原子用白色标示。

蛋白质的功能多样性是由其结构多样性引起的（图版 4-1）：结构决定功能。因此，我们将从蛋白质的三维结构及这些结构引起的特性开始讨论这些重要的大分子。接下来我们再来看蛋白质如何工作：酶如何催

化化学反应，一些蛋白质如何作为分子开关起作用，以及另一些蛋白质如何引起协调的运动。然后，我们再研究细胞如何控制其所含蛋白质的活性和定位。最后，我们将对生物学家用来研究蛋白质的技术作一个简短的说明，包括从组织中或培养细胞中纯化蛋白质以及确定蛋白质结构的一些方法。

4.1 蛋白质的形状与结构

从化学的角度来看，到目前为止，蛋白质是已知结构最复杂、功能最强大的分子。这也许并不奇怪，因为经过数亿年的进化，每一种蛋白质的结构和化学组成都得到很大的发展和精细的调节。我们首先来看形成蛋白质的氨基酸长链上每个氨基酸的位置如何决定其精确的三维结构，这种稳定的结构是由于分子的不同部分形成了非共价的相互作用。而对原子水平上蛋白质结构的认识则让我们能够说明这种精确的蛋白质结构如何决定其功能。

4.1.1 氨基酸序列确定蛋白质的形状

从第 2 章中我们知道蛋白质是由 20 种不同的氨基酸构成，每种氨基酸皆有不同的化学特性。**蛋白质**分子由一条氨基酸长链所构成，相邻氨基酸之间通过共价肽键相连(图 4-1)。因此，蛋白质又可称为**多肽**或**多肽链**。在每种类型的蛋白质中，氨基酸具有特定的顺序，这被称为**氨基酸序列**。同种蛋白质分子的氨基酸序列相同。以胰岛素分子为例，每个胰岛素分子的氨基酸序列都是相同的。迄今已发现成千上万种不同类型的蛋白质；每种蛋白质具有独特的氨基酸序列。

每条多肽链由一条支撑氨基酸侧链的主链组成。**多肽主链**由多肽链上的氨基酸核心原子的重复序列组成。与重复链相连的是 20 种不同的氨基酸**侧链**——它们是氨基酸中不参与肽键形成的部分(图 4-2)。这些侧链赋予了氨基酸的独特性质。有些氨基酸是非极性和疏水的(憎水的)，有些则带有正电荷或负电荷，还有些具有反应活性，等等。图版 2-5 给出了 20 种氨基酸的结构和特性，并在图 4-3 中列出它们的缩写形式。

长长的多肽链具有很好的柔韧性：这是因为氨基酸链上许多连接碳原子的共价键可以自由旋转。因而，理论上多肽主链可以有无限多的折叠方式。每条折叠的肽链都要受到大量不同类型的弱的非共价键限制。多肽主链或侧链上的原子参与形成非共价键，帮助蛋白质维持其形状。非共价键包括氢键、离子键以及范德华力，这些内容我们已经在第 2 章中介绍了(图版 2-7)。与共价键相比，单个非共价键非常弱，因此需要大量的非共价键才能将多肽链的两个区域紧密结合起来。每种折叠形状的稳定性受大量非共价键的综合力量影响(图 4-4)。

第四种弱作用力是疏水相互作用，它对于决定蛋白质的形状也具有十分重要的作用。在水环境中，包括一些氨基酸的非极性侧链在内的疏水分子倾向于聚在一起，以减少破坏它们周围以氢键联结的水分子的网络结构(图版 2-2)。因此，控制蛋白质折叠的一个重要因素是极性和非极性氨基酸的分布。非极性疏水侧链——如苯丙氨酸、亮氨酸、缬氨酸以及色氨酸等——往往聚集在蛋白质的内部(类似于疏水油滴聚集形成一个大油滴)。隐藏在折叠蛋白质内部的疏水侧链能够避免它们与细胞内水相的细胞溶质相接触。与此相反，极性侧链——如精氨酸、谷氨酰胺和组氨酸等的侧链——则倾向于排列在折叠蛋白质的外侧，以利于与水及其他极性分子形成氢键(图 4-5)。当极性氨基酸位于蛋白质分子内部时，它们通常与别的极性氨基酸或多肽主链形成氢键(图 4-6)。

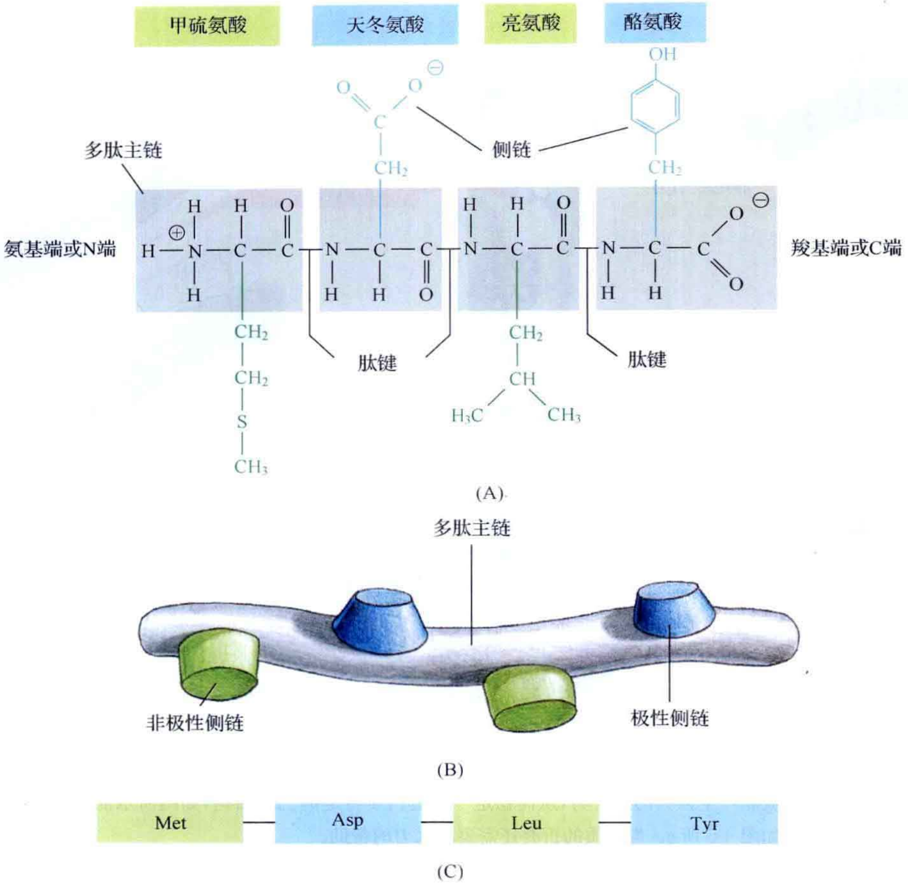


图 4-2 蛋白质由氨基酸相连而成。(A) 在图 4-1 中的氨基酸通过反应相连形成一条具有重复结构的多肽主链(灰色方框),并从中延伸出氨基酸侧链。这里显示了一个由四个氨基酸组成的小分子多肽。蛋白质通常由数百个氨基酸形成的多肽链组成。一条多肽链的两端具有不同的化学性质:携带自由氨基(NH_3^+,也可写作 NH_2)的一端称为氨基端,或 N 端;携带自由羧基(COO^-,也可写作 COOH)的一端称为羧基端,或 C 端。(B) 化学性质不同的侧链(如极性和非极性侧链)的位置赋予每个蛋白质特有的性质。(C) 一个蛋白质的氨基酸序列总是标示为从 N 端到 C 端的方向,自左向右书写。

氨基酸			侧链
天冬氨酸	Asp	D	带负电
谷氨酸	Glu	E	带负电
精氨酸	Arg	R	带正电
赖氨酸	Lys	K	带正电
组氨酸	His	H	带正电
天冬酰胺	Asn	N	极性，不带电
谷氨酰胺	Gln	Q	极性，不带电
丝氨酸	Ser	S	极性，不带电
苏氨酸	Thr	T	极性，不带电
酪氨酸	Tyr	Y	极性，不带电

极性氨基酸
(亲水的)

氨基酸			侧链
丙氨酸	Ala	A	非极性
甘氨酸	Gly	G	非极性
缬氨酸	Val	V	非极性
亮氨酸	Leu	L	非极性
异亮氨酸	Ile	I	非极性
脯氨酸	Pro	P	非极性
苯丙氨酸	Phe	F	非极性
甲硫氨酸	Met	M	非极性
色氨酸	Trp	W	非极性
半胱氨酸	Cys	C	非极性

非极性氨基酸
(疏水的)

图 4-3 在蛋白质中发现的 20 种不同的氨基酸。图中列出了三字母和单字母的缩写符号。极性和非极性侧链的数目相同。每个氨基酸的原子结构详见图版 2-5。

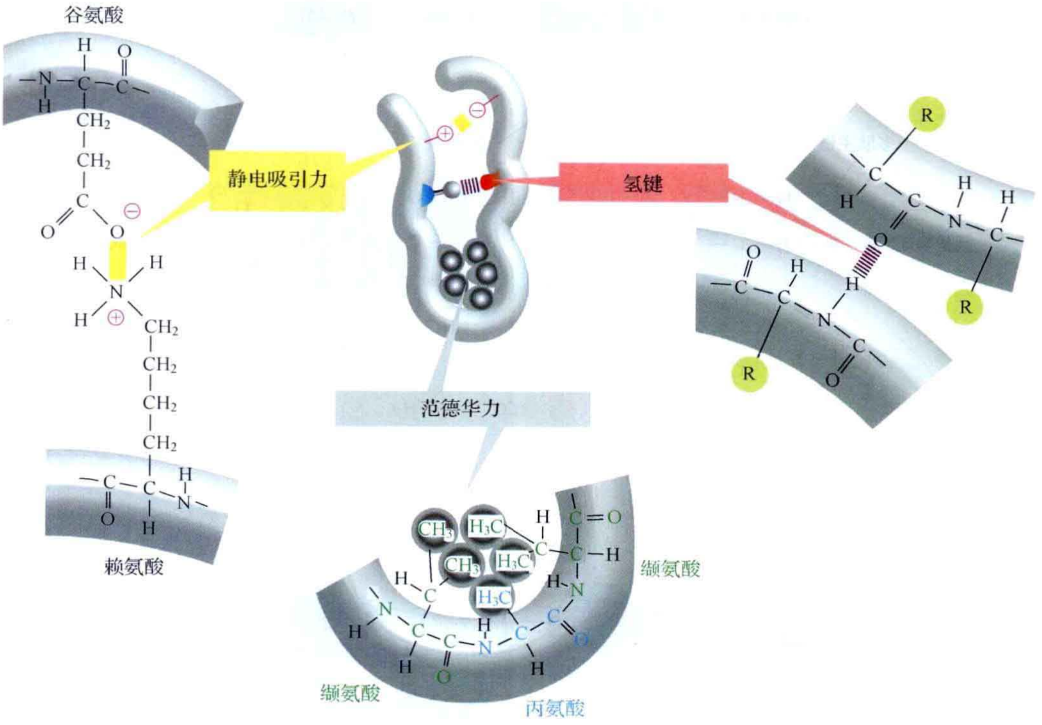


图 4-4　**三类非共价键帮助蛋白折叠**。图中显示了一个小分子多肽(蛋白中心),虽然单个非共价键非常弱,但是许多键排列在一起后就能产生强大的结合力,从而稳定一个蛋白质特定的三维结构,如图所示的小肽(中央)。R 通常代表一个侧链。如图 4-5 所示,蛋白质的折叠还需要疏水力的帮助。

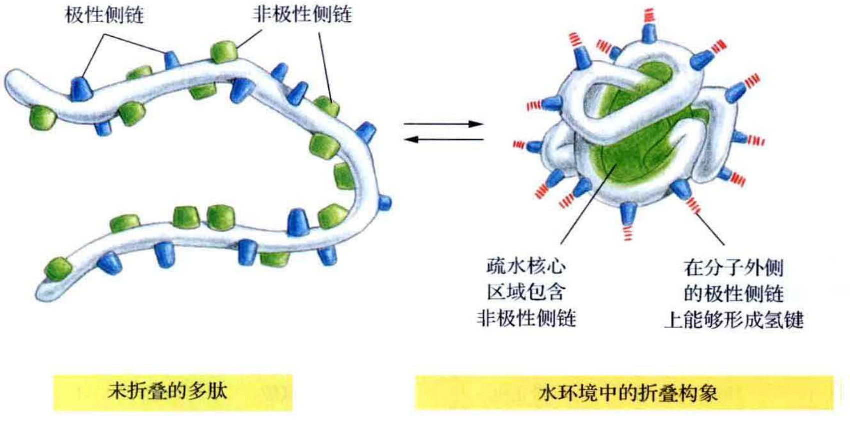


图 4-5　**疏水力帮助蛋白质折叠形成致密的结构**。极性氨基酸侧链趋向于折叠的蛋白质的外侧并与水相互作用;而非极性氨基酸侧链在蛋白质内部形成一个高度压缩的原子疏水中心,这些原子躲避水。在这个极为简化的图示中,该蛋白质只含有约 30 个氨基酸。

4.1.2　蛋白质折叠形成能量最低的构象

每一种蛋白质都有一个特定的三维结构,这是由肽链上氨基酸的排列顺序决定的。多肽链最终的折叠结构或**构象**是由其能量状况决定的,通常是处于自由能(G)最小时的构象。利用高

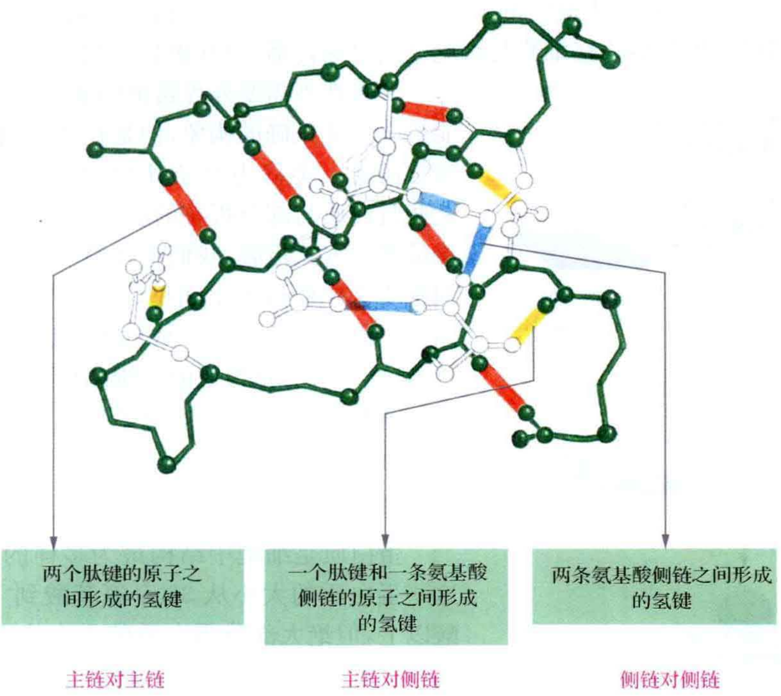


图 4-6　**蛋白质分子内的氢键帮助蛋白质稳定结构。**在折叠的多肽链的相邻区域之间形成大量的氢键。图示中的蛋白质是溶菌酶的部分结构。绿色表示多肽主链。主链原子之间形成的氢键用红色标示；一个肽键和一条侧链的原子之间形成的氢键用黄色标示；两条侧链的原子之间形成的氢键用蓝色标示。请注意：同一条氨基酸侧链能够形成多个氢键。（参考 C. K. Mathews, K. E. van Holde and K. G. Ahern, Biochemistry, 3rd ed. San Francisco: Benjamin Cummings, 2000）

纯度的蛋白质，研究人员在实验室中研究蛋白质的折叠。某些溶剂可以破坏多肽链结合时的非共价相互作用。用这种溶剂处理蛋白质，可以使蛋白质去折叠（或变性），成为失去自然构象的松散肽链。当去掉这种溶剂时，蛋白质又可以自发地重新折叠（或复性）成为原来的构象（图 4-7）。这就说明决定蛋白质三维结构所需的全部信息包含在这个蛋白质的氨基酸序列之中。

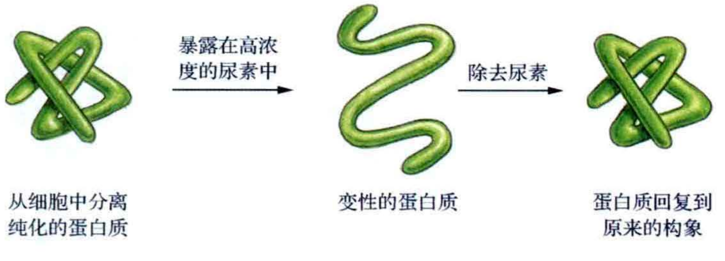


图 4-7　**变性的蛋白质能够恢复它们原来的形状。**这个实验表明一个蛋白质的构象只由它的氨基酸序列决定。对小分子的蛋白质来说，复性效果最好。

每个蛋白质通常只形成一种稳定构象。然而，当蛋白质和细胞内的其他分子发生相互作用时，这种构象往往会发生微小的变化。在本章里，我们将看到这种构象上的变化对于蛋白质的功能往往是很重要的。

当蛋白质折叠发生错误时，有时它们会聚集起来危害细胞甚至整个组织。聚集的蛋白质是一系列神经退行性疾病的根源，包括阿尔茨海默病和亨廷顿舞蹈病。朊病毒病——例如，羊瘙痒病、牛海绵状脑病（俗称疯牛病，bovine spongiform encephalopathy, BSE）和人克雅氏病（Creutzfeldt-Jakob disease, CJD）——也是由于蛋白聚集引起的。朊蛋白（PrP）的错误折叠被

视为“具有传染性”，因为它能使患病的大脑里正确折叠的朊蛋白转变为错误的构象(图 4-8)。这使得朊蛋白的错误折叠形式在细胞与细胞之间迅速传播，引起患病动物或人的死亡。

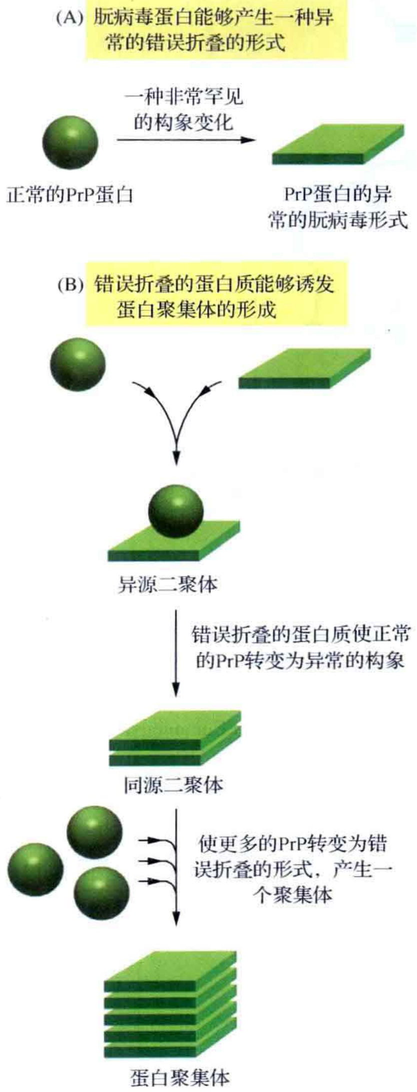


图 4-8 少数蛋白质的错误折叠引发朊病毒疾病，而这种蛋白质的错误折叠具有感染力。在这类蛋白质中，哺乳动物蛋白 PrP 的研究最多。(A) 这类蛋白质经历一种罕见的构象变化，产生一种折叠异常的朊病毒形式。(B) 在宿主的大脑中，PrP 的异常形式引起正常的 PrP 蛋白转变成为错误的折叠形式，导致蛋白聚集，进而阻断大脑功能并引发疾病。

尽管在不需要外界帮助的情况下，蛋白质肽链即能折叠形成正确的构象，但是在活细胞内蛋白质折叠通常需要一类称为分子伴侣的特殊蛋白质的帮助。这些蛋白质与部分折叠的肽链结合，并帮助它们按能量最优的方式折叠，我们将在第 7 章里加以叙述。在细胞质这样拥挤的空间里，分子伴侣是至关重要的，因为它们可以防止新合成的蛋白肽链与错误的分子相结合。然而，蛋白质的三维结构最终还是由其特异的氨基酸序列所决定的，分子伴侣只是使得折叠过程更为有效和准确。

4.1.3 蛋白质可以形成多种复杂的形状

蛋白质是细胞中结构最为多样的大分子。尽管这些蛋白质的大小从 30 个氨基酸到 10 000 个氨基酸以上，但绝大部分蛋白质的大小为 50～2000 个氨基酸。蛋白质可以是球状或者纤维状；它们能够形成蛋白丝、片状、环形或者球状。图 4-9 展示了一些已经知道结构的蛋白质。我们将会在本章或本书中遇到这些蛋白质。

解析一个蛋白质的结构通常从它的氨基酸序列入手，这可以通过多种方法来完成。许多年来，蛋白质测序可以通过直接分析纯化的蛋白质中的氨基酸来完成；第一个测序完成的蛋白质是**胰岛素**，它的序列于 1955 年公布。如今，通过测定编码蛋白质的基因序列，我们能够很容易地间接确定蛋白质的序列(详见第 10 章)。一旦确定编码某种蛋白质的 DNA 序列，就可以利用遗传密码将其翻译为氨基酸序列(详见第 7 章)。迄今，研究人员已经用这种方法确定了数百万种蛋白质的氨基酸序列。这些序列信息被收集到电子数据库中，让使用者能够快速得到任何蛋白质的氨基酸序列。

尽管多肽链折叠所需的全部信息都包含在氨基酸序列上，但我们还不知道如何单从氨基酸序列准确预测蛋白质详细的三维结构，即它的全部原子在空间中的排列。目前，要确定蛋白质精确的三维构象，只有通过 X 射线或核磁共振的实验方法，这些内容我们将在本章中加以介绍。迄今为止，我们用这些技术分析了大约 20 000 多种不同的蛋白质。绝大部分蛋白质的三维结构都是如此地复杂和不规则，以至于我们需要整整一章的篇幅才能清楚地描述它们的结构。

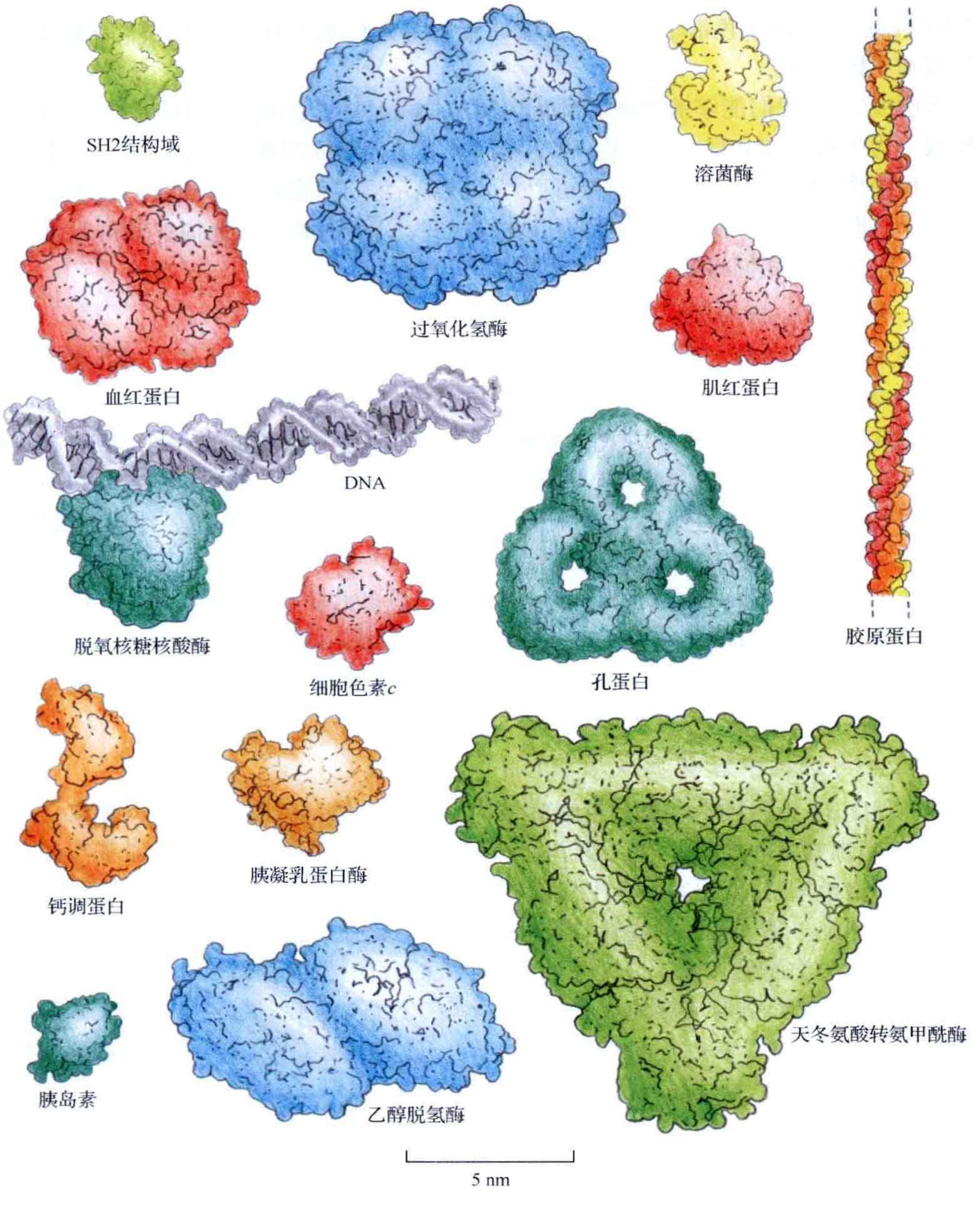


图 4-9　**蛋白质具有多样的形状和大小。**每种折叠的多肽用空间填充模型来显示，并用相同的比例尺标示。图的左上角显示 SH2 结构域，详细说明参见图版 4-2。为便于比较，图中还显示了一段 DNA 分子（灰色）和一个蛋白质的结合。（参考 David S. Goodsell, Our Molecular Nature. New York: Springer-Verlag, 1996. 并获 Springer Science 和 Business Media 版权允许）

由于一个大分子蛋白的结构很难研究，我们从较小的一个分子的蛋白结构域入手来说明蛋白质构象的复杂性。简单地说，绝大部分蛋白质通过多个结构域形成，每个结构域都形成一个复杂的三维结构。在图版 4-2 中，我们描述了真核细胞信号转导过程中的重要蛋白结构域 SH2 的四种表示方法。这个结构域由 100 个氨基酸构成，其完整的结构分别用多肽骨架模型（A）、条带模型（B）、包括氨基酸侧链在内的金属丝模型（C）和空间填充模型（D）来显示。正如该图版

中所说明的，每种模型强调了这条多肽链的不同特点。三个箭头分别从不同的方向显示了 SH2 的结构域，彩图的颜色沿多肽链从 N 端的紫色变为 C 端的红色。我们将简单描述这个蛋白结构域的不同部分。

从图版 4-2 中，我们能够清楚地看到蛋白质的构象是多么的复杂，即使是诸如 SH2 这样小的结构域。为了看清如此复杂的结构，科学家们开发了大量的图像和计算机工具来获得一个蛋白质的多种图像(图版 4-2)。这些图像可以展示在显示屏上，旋转后看到蛋白结构的所有侧面(视频 4.1)。此外，通过识别几种常见的折叠方式，我们将更加容易地描述和展示如此复杂的蛋白结构。这些内容我们将在下面的文字里加以讨论。

4.1.4 α 螺旋和 β 折叠是常见的折叠方式

在比较不同蛋白质分子的三维结构时，我们可以清楚地看到：尽管每个蛋白质的整体构象是独特的，但有两种规则的折叠方式还是经常出现。早在 50 多年前，它们就已经从头发和蚕丝的研究中被发现了。第一种折叠方式 **α 螺旋**是在 α-角蛋白中被发现的。α-角蛋白在皮肤及其衍生物如头发、指甲及角中含量丰富。在发现 α 螺旋的一年之后，在蚕丝的主要成分——丝心蛋白中发现了第二种折叠结构，称为 **β 折叠**。(生物学家用希腊字母来命名他们的发现，第一个发现被冠以 α，第二个则被称为 β，依次类推。)

这两种折叠方式在蛋白质中尤为普遍，因为它们是多肽主链上的 N—H 和 C═O 之间形成氢键的结果。由于氨基酸侧链并不参与这些氢键的形成，α 螺旋和 β 折叠可以由许多不同的氨基酸序列形成。在任何一种情况下，它们的蛋白质链都采取一种规则的重复构象。这些结构特征和条带模型的简略形式经常被用来表示蛋白质的结构模型(图 4-10)。

4.1.5 在生物结构中容易形成螺旋结构

在某种程度上，蛋白质中存在大量螺旋结构并不令人惊讶。图 4-11 显示**螺旋**是一种规则的结构，就像是螺旋状的楼梯那样。通过将许多相似的亚基依次放置，每个亚基与前一个亚基的位置关系严格地重复，就很容易产生螺旋的结构。因为很少有亚基相连形成直线，这种排列通常导致产生螺旋。基于楼梯的旋转，螺旋的方向可以是左旋也可以是右旋(图 4-11E)。但手性并不会因螺旋颠倒而受影响，不过在镜子里，螺旋的成像是相反的。

当单个多肽链围绕自身旋转形成圆柱体时，就产生了 α 螺旋。每 4 个肽键之间形成一个氢键，氢键将一个肽键的 C═O 与另一个肽键的 N—H 键相连(图 4-10A)。由此产生规则的螺旋，每个螺旋包含 3.6 个氨基酸(视频 4.2)。

在细胞膜上的蛋白质(如转运蛋白和受体)中，短的 α 螺旋尤为丰富。在第 11 章中，我们将看到跨膜蛋白的穿越脂双层部分通常含有由非极性侧链的氨基酸形成的 α 螺旋。在 α 螺旋中，亲水的多肽主链在自身内部形成氢键，并通过伸出非极性的侧链使多肽主链免受膜上疏水的脂环境的破坏(图 4-12)。

有时，两个(或三个)α 螺旋能互相缠绕形成更加稳定的**卷曲螺旋**结构。当两个 α 螺旋的非极性(疏水)侧链大多位于同一侧时，它们可以互相缠绕并使这些侧链朝内形成这种结构，这使得它们与含水细胞溶质的接触面积减到最小(图 4-13)。许多伸展的蛋白都是以这种长杆状的卷曲螺旋为结构框架的。如用于形成细胞内的纤维以增强皮肤外层及其附属物的 α-角蛋白，以及与肌肉收缩有关的肌球蛋白(第 17 章)。

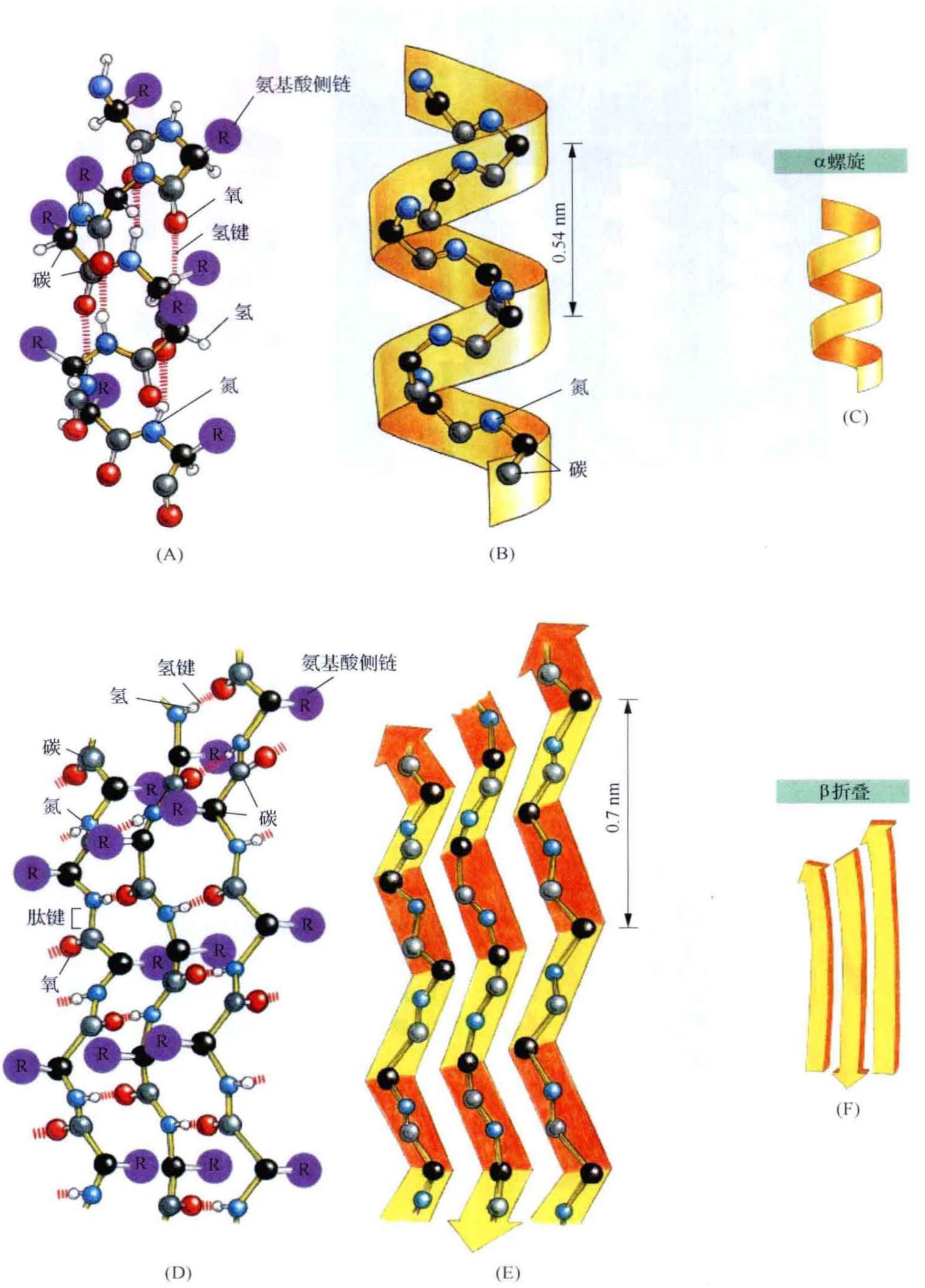


图 4-10 多肽链通常折叠形成两种规则的重复形式中的一种，即 α 螺旋和 β 折叠。(A～C)在 α 螺旋中，每个肽键上的 N—H 与同一肽链上相距 4 个氨基酸的相邻肽键上的 C═O 形成氢键。(D～F)在 β 折叠的情况下，单条多肽链通过不同链上肽键之间的氢键结合在一起，每条链上的氨基酸侧链交替地伸向折叠平面的上方和下方。以图中为例，相邻的多肽链的方向相反，形成反向平行的 β 折叠。(A)和(D)显示了多肽主链上所有的原子，不过氨基酸侧链用 R 表示。(B)和(E)只显示了多肽主链上的碳原子和氮原子，而(C)和(F)则是象征性的符号，用以表示条带模型中蛋白的 α 螺旋和 β 折叠(图版 4-2B)。

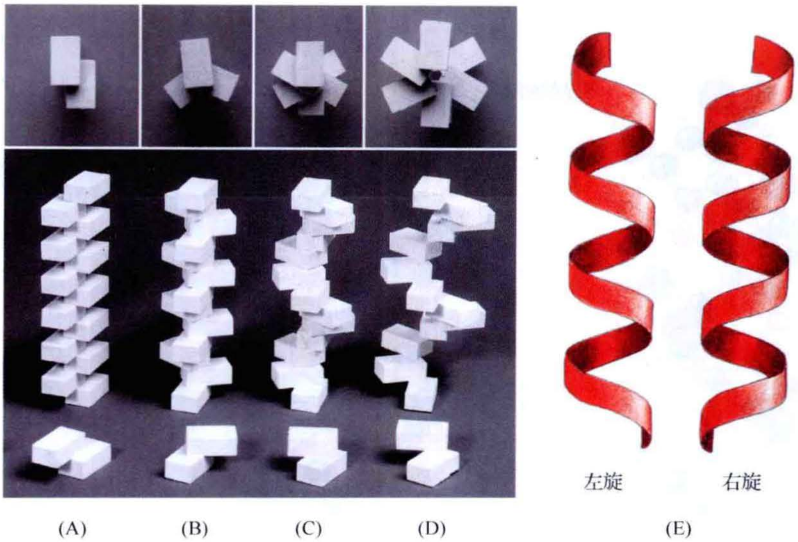


图 4-11 螺旋是一种规则的生物学结构。当一系列亚基以一种规则的方式(A～D)相互组合,就能形成螺旋。图的下半部分显示了两个亚基之间的相互作用;它们的后面是形成的螺旋。这些螺旋的每个转角单元分别有 2 个(A)、3 个(B)和 6 个(C 和 D)亚基。图的上半部分显示从螺旋上端俯视所见到的各个亚基排列图。请注意:与(C)相比,(D)中的螺旋有着更宽的行径,但两者每圈所含的亚基数目是一样的。(E)螺旋有左旋和右旋之分。作为参考,请记住普通的金属螺钉,如果顺时针嵌入物体的就是右旋的。注意:将一个螺旋颠倒后,螺旋的手性将保持不变。

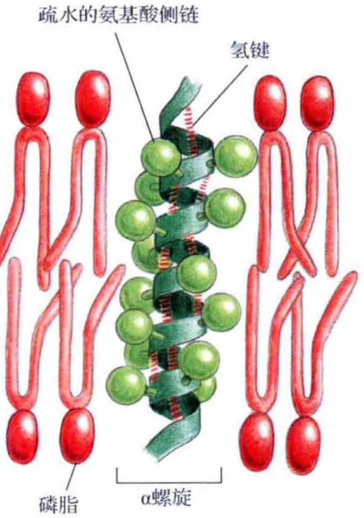


图 4-12 一段 α 螺旋能穿过脂双分子层。形成 α 螺旋的疏水的氨基酸侧链和磷脂分子的疏水烃尾相互接触,而多肽主链的亲水部分和 α 螺旋内部的另一段亲水氨基酸残基之间形成氢键。以这种方式跨膜需要约 20 个氨基酸。

4.1.6 在许多蛋白质的核心区域,β 折叠形成坚固的结构

我们在图版 4-2 中介绍了 SH2 这个小小的蛋白质结构,它同时含有多个 α 螺旋和一个 β 折叠。当并排的多肽链区段之间形成氢键时,就能形成 β 折叠(图 4-10 D)。当相邻多肽链以相同的方向(假定从 N 端到 C 端)排列形成 β 折叠时,这种结构被称为平行的 β 折叠;当由一条多肽链来回折叠形成反向平行的折叠—即多肽链的每一段与相邻的另一段方向相反,这种结构被称为反向平行的 β 折叠(图 4-14)。这两类 β 折叠产生一个非常牢固的褶状结构,并形成许多蛋白质的核心区。例如,SH2 就含有一个反向平行的 β 折叠。

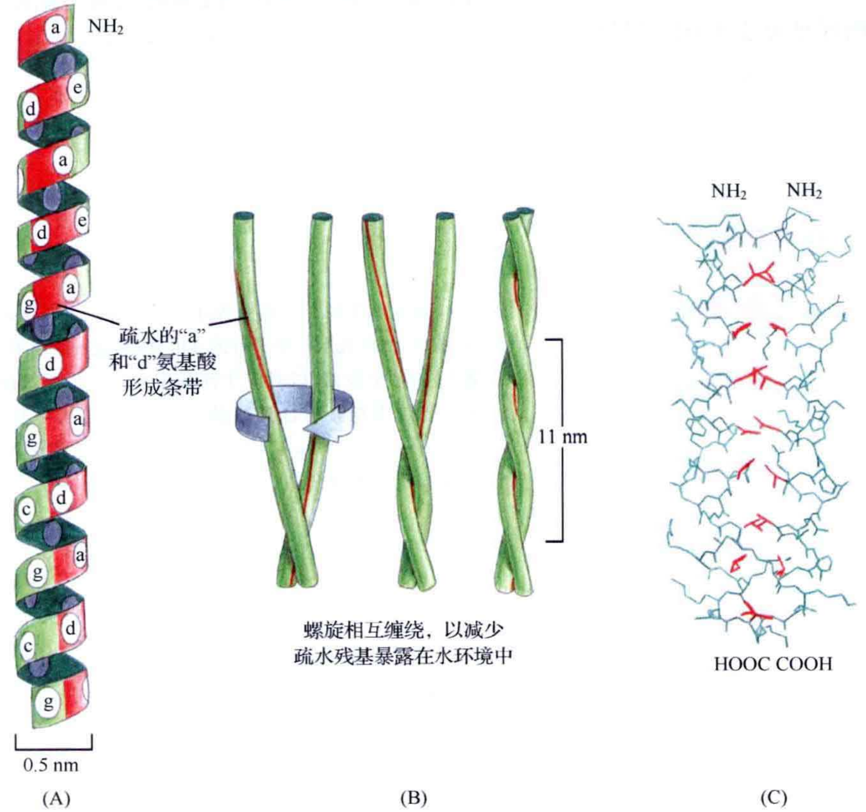


图 4-13 互相缠绕的螺旋能够形成卷曲螺旋结构。(A)中显示的是单个 α 螺旋，其中相连的氨基酸侧链分别用“abcdefg”的七个字母来标记。在螺旋表面的“a”和“d”氨基酸紧密排在一起，形成一条缓慢围绕 α 螺旋的“条纹”(红色暗影)。形成卷曲螺旋结构的蛋白质在“a”和“d”位点上往往都是非极性的氨基酸。因而，如(B)所示，两条 α 螺旋能够通过 α 螺旋上非极性侧链之间的相互作用而互相缠绕，而亲水的氨基酸侧链则暴露在水环境中。(C)通过 X 射线结晶学的方法确定两个 α 螺旋形成卷曲螺旋的原子结构。用红色标记的侧链是非极性的。3 个 α 螺旋同样也可以形成卷曲螺旋(视频 4.3)。

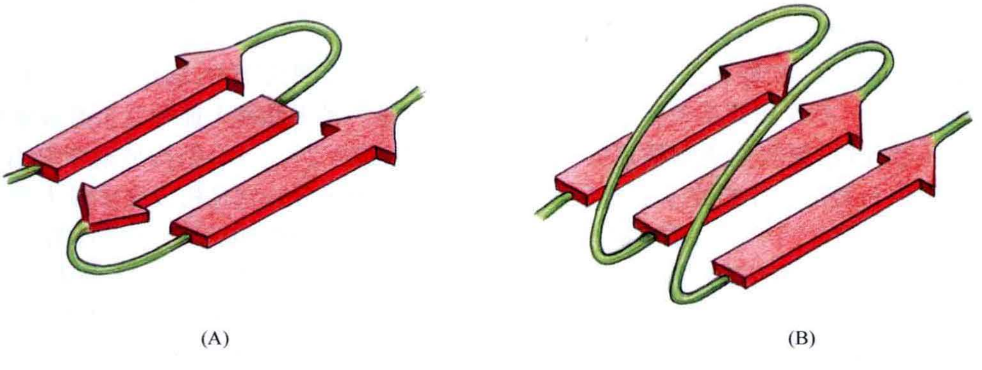


图 4-14 两类 β 折叠结构。(A) 反向平行 β 折叠(图 4-10D)。(B) 平行 β 折叠。这两种结构在蛋白质中都很普遍。按照惯例，箭头指向多肽链的 C 端。

β 折叠具有特殊的性质。它使蚕丝纤维具有更好的延展性。它保护昆虫在寒冷中不被冻僵。科研人员从寒冷环境中存活的甲虫身上分离得到一种抗冻的蛋白，并发现沿着蛋白质分子的一侧，一系列平行的 β 折叠形成一个美丽的平面(图 4-15)。这种排列似乎为结合冰晶中有规

律间隔的水分子提供了一个完美的平台。当水低于冰点结冰时，抗冻蛋白通过黏附冰晶防止冰晶生长，因而保证昆虫细胞不结冰。

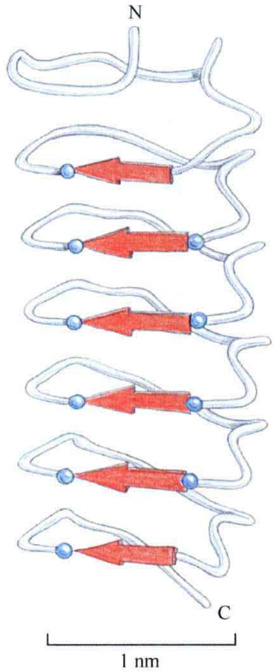


图 4-15　在抗冻蛋白中，β 折叠为冰的结合提供了一个理想的表面。在图中，红色表示 6 个平行的 β 折叠，形成一个含有 10 个羟基（蓝色）的扁平表面，以对应于冰晶中水分子的距离间隔。因此，这个蛋白质能够结合到冰晶上，防止冰晶的生长。（参见 Y. C. Liou et al.，*Nature* 406：322-324，2000. 并获 Macmillan Publishers Ltd. 版权允许）

4.1.7　蛋白质具有多个层次的组织形式

蛋白质的结构并不仅限于 α 螺旋和 β 折叠，它们还具有其他的组织层次。这些层次并不是独立的，而是逐次建立，直到整个蛋白质的三维结构被完全确定。一个蛋白质的结构开始于它的氨基酸序列，因而氨基酸序列被认为是蛋白质的*初级结构*。蛋白质的下一个组织层次包括形成一条多肽链特定区域的 α 螺旋和 β 折叠，它们形成蛋白质的**二级结构**。一条多肽链的三维构象包括 α 螺旋、β 折叠、随机的螺旋结构、环状物以及 N 端和 C 端之间形成的折叠等，它们被视为蛋白质的*三级结构*（图版 4-2）。最后，如果一个特定的蛋白质分子形成一个包含几条多肽链的复合物，那么这整个结构被定义为蛋白质的*四级结构*。

对蛋白质的构象、功能和进化的研究可以揭示另外一种组织层次的重要性，这与我们刚才的描述截然不同。这个组织的单元是**蛋白质结构域**，它是一条多肽链上能独立折叠成紧密而稳定结构的任意片段，如我们刚刚描述的 SH2 结构域（图版 4-2）。一个结构域通常含有 100～250 个氨基酸（折叠形成 α 螺旋、β 折叠以及二级结构的其他组分），它是构成许多较大蛋白质的模块单元（图 4-16）。一个蛋白质不同的结构域通常与不同的功能相关联。例如，图 4-16 所示的蛋白质为细菌用于基因开关的*代谢物激活蛋白*（CAP）。CAP 蛋白有两个结构域：小的结构域结合 DNA，而大的结构域则结合胞内的信号分子 cAMP。当大的结构域与 cAMP 结合时，引起蛋白质的构象改变，使小的结构域结合一段特殊的 DNA 序列并促进邻近基因的表达。在许多不同的多肽中都可以发现 SH2 结构域（图版 4-2），它作为一个结合域促进蛋白之间的相互作用，这些我们将在第 16 章里加以讨论。

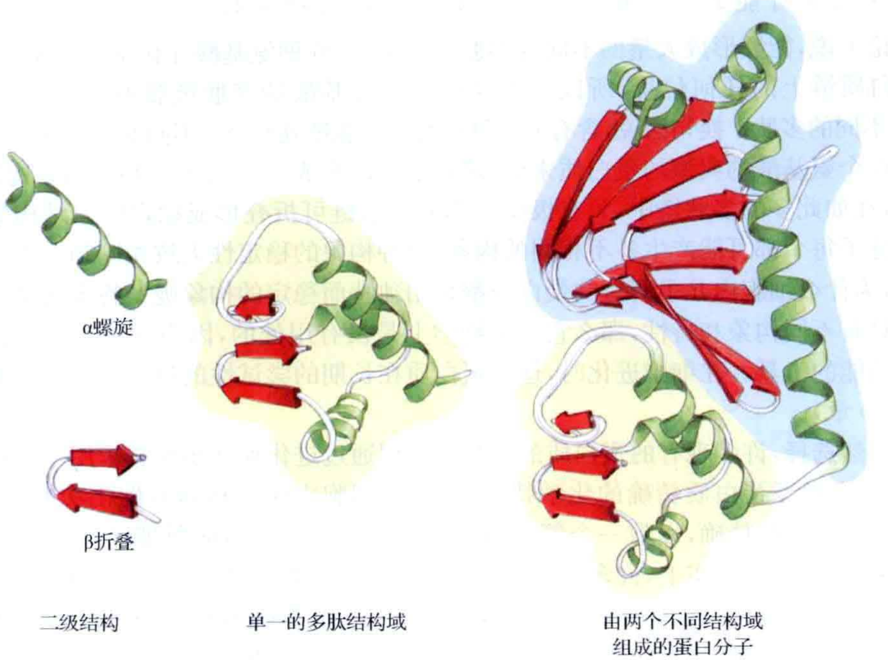


图 4-16　许多蛋白质由多个单独的功能域组成。α 螺旋和 β 折叠等二级结构元件聚集在一起，形成稳定的球状结构，称为结构域。一个典型的蛋白质分子由一个或多个结构域组成，彼此之间通过相对松散的多肽链区段相连而成。图的右侧是细菌基因调控蛋白 CAP 的条带模型图，它含有一个大的结构域（蓝色轮廓）和一个小的结构域（黄色轮廓）。

以载氧肌肉蛋白——肌红蛋白为例，小分子蛋白质只含有一个结构域（图 4-9）。而较大的蛋白质可含有数十个结构域，它们之间通常由相对无固定结构的多肽链相连。图 4-17 显示了三个不同组织形式的结构域的条带模型。

图 4-17　三个不同的蛋白结构域的条带模型。(A) 细胞色素 b_{562} 是 *E. coli* 中参与线粒体中电子传递的单域蛋白，它几乎全部由 α 螺旋构成。(B) 乳酸脱氢酶中结合 NAD 的结构域由 α 螺旋和 β 折叠混合形成。(C) 一个免疫球蛋白（抗体）轻链的可变区是由两个 β 折叠构成的夹层。在这些例子中，α 螺旋用绿色表示，而 β 折叠则用红色箭头表示。突出的环状区域（黄色）通常为其他分子提供结合位点。（原图承蒙 Jane Richardson 惠许）

4.1.8 在大量可能的多肽链中只有少数几个是有功能的

从理论上说，能够形成大量的不同的多肽链。由于 20 种氨基酸在化学上是不同的，并且可以位于蛋白质链上的任何位置，所以一条含有 4 个氨基酸的多肽链就有 $20\times20\times20\times20=160\ 000$种不同的多肽。换句话说，含有 n 个氨基酸的多肽链就有 20^n 不同的可能性。对于一个长度约为 300 个氨基酸的典型的蛋白质来说，理论上可以形成 20^{300} (10^{390})种不同结构的多肽链。

然而，在如此多的多肽链中，只有极少一部分多肽链可折叠形成稳定的三维构象。绝大部分蛋白质分子每个都可能产生各不相同的构象，每种构象的稳定性大致相同却有不同的化学特性。那么，为什么细胞内几乎所有的蛋白质都采用独特而稳定的构象呢？答案是某一个蛋白质如果可以具有不同构象和特性，那么它在生物学上是没有用处的，因为它像一个可能会出乎意料地改变功能的工具。在细胞进化时，这些蛋白质在长期的尝试性的过程中被自然选择所除去了(详见第 9 章)。

由于自然选择，许多现有的蛋白质的氨基酸序列通过进化保证多肽链采用一个极其稳定的构象，这种构象赋予蛋白质精确的化学特性，使之在细胞中执行特殊的催化功能或结构功能。蛋白质被构造得如此精确，以致一个氨基酸上几个原子的变化有时就能破坏一个蛋白质的结构，并导致功能丧失。事实上，许多蛋白质的结构非常稳定和有效，以至于它们在不同物种间通过进化后的蛋白质结构是很保守的。例如，酵母 $\alpha2$-蛋白和果蝇 Engrailed 蛋白 DNA 结合域的三维结构几乎完全相同，尽管这些生物早在十亿年前就分开进化了。

4.1.9 蛋白质可被归纳分类

蛋白质一旦进化到稳定构象并带有有用特性时，它的结构可以随着时间推移而稍作修饰并使之具有新的功能。我们知道，在进化过程中这种修饰是经常发生的，因为许多的现有蛋白质可以归类为不同的**蛋白质家族**，在一个家族内，每个成员彼此间具有相似的氨基酸序列和三维构象。

例如，丝氨酸蛋白酶是一类蛋白质剪切酶(蛋白酶)家族，包括消化酶，如胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶和弹性蛋白酶，以及参与血液凝固的一些蛋白酶。当这些蛋白酶进行两两比较时，可发现部分氨基酸序列几乎完全相同。而它们的三维构象则更为相似：在长达几百个氨基酸的多肽链上，许多缠绕和拐角几乎都是一样的(图 4-18)。然而不同的丝氨酸蛋白酶还是各具独特的蛋白酶活性，能够剪切不同的蛋白质或者位于不同类型的氨基酸之间的肽键。这些蛋白酶结构上的细微变化使得它们偏好不同的底物。因此，在生物体内每种酶都有各自特有的功能。

4.1.10 大蛋白质分子通常含有一条以上的多肽链

弱的非共价键不仅能使多肽链折叠形成特定的构象，而且还能使细胞内的蛋白质互相结合形成一种更大的结构。蛋白质表面通过非共价键与别的分子相互作用的区域被称为结合位点。一个蛋白质可以拥有许多结合位点，它们与各种或大或小的分子相结合。当一个结合位点识别第二个蛋白的表面时，两条折叠的多肽链在此位点紧密地结合，并产生一个具有精确几何形状的更大的蛋白质。在这类蛋白质中，每条多肽链被称为**亚基**。每个亚基可能含有一个以上的结构域，它们是多肽链单独折叠的部分。

最简单的情况是，两个相同的多肽链通过同样的结合位点相互作用并形成有两个蛋白亚基的对称复合物(称为二聚体)。前面提及的细菌细胞中的 CAP 蛋白就是一个蛋白二聚体(图 4-19A)，它由两个完全相同的蛋白亚基所构成(图 4-16)。细胞中通常存在着许多由一条肽链的多个拷贝组成的对称的蛋白复合物。例如，神经氨酸酶由 4 个相同的亚基成环排列而成(图 4-19B)。

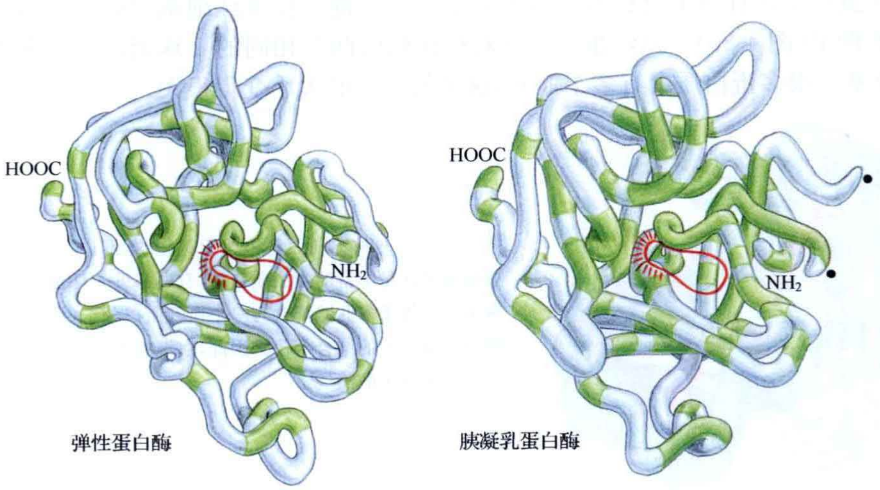


图 4-18 丝氨酸蛋白酶由一个蛋白水解酶家族构成。图示为两个丝氨酸蛋白酶（弹性蛋白酶和胰凝乳蛋白酶）主链的构象。在这两种蛋白质的多肽链上，虽然只有绿色标识的那些氨基酸是相同的，但这两种蛋白质的构象几乎在任何部位上都是相似的。每种酶的活性位点用红色圈出，这是底物蛋白的肽键被结合和被水解剪切的地方。丝氨酸蛋白酶因丝氨酸而得名，它的侧链作为酶活性位点的一部分而直接参与剪切反应。胰凝乳蛋白酶分子右侧的两个黑点是被该酶自身切割后产生的两个末端。

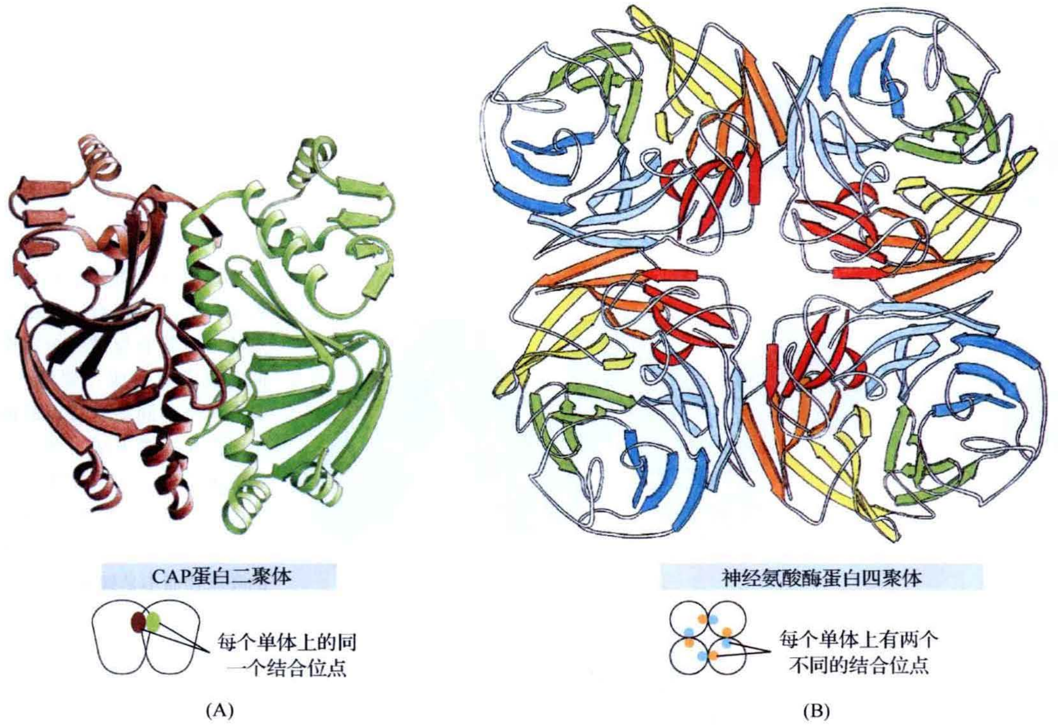


图 4-19 许多蛋白分子含有多个相同的蛋白亚基。（A）一个对称的二聚体。CAP 蛋白是由两个相同的多肽链组成的复合物（图 4-16）。（B）一个对称的四聚体。神经氨酸酶是由四个相同的多肽链形成的环状物。（A）和（B）图示下方的小示意图强调了如何重复利用相同的相互作用来形成这样的结构。在（A）中，利用每个单体上的同一个结合位点（用灰色和绿色的椭圆形表示）导致形成一个对称的二聚体。在（B）中，一对不同的结合位点（用橙色和蓝色的圆圈表示）导致形成一个对称的四聚体。

其他的蛋白质含有两个或更多个不同类型的多肽链。在血红细胞中载氧的血红蛋白就是一个很好的例子(图 4-20)。血红蛋白含有对称排列的两个相同的 α-珠蛋白亚基和两个相同的 β-珠蛋白亚基。很多蛋白质含有多个亚基,这就使它们的大小变得很大。

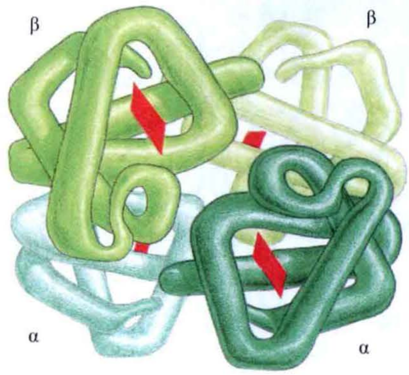


图 4-20 由两种不同亚基组成的对称的蛋白。血红蛋白是一类血细胞中含量丰富的蛋白质,它含有两拷贝 α-珠蛋白和两拷贝 β-珠蛋白。每条多肽链都含有一个血红蛋白分子(红色矩形标示),那里是氧分子的结合部位。因此,血液中的每个血红蛋白分子都能携带四分子的氧气。

4.1.11 蛋白质可以装配形成丝、片或球

蛋白质还可以形成比我们提到过的更大的组装体。最简单的是,当一个蛋白分子的结合位点与同种类型的另一个蛋白分子的表面区域互补时,就能形成同种蛋白分子的一条长链。由于每个蛋白分子可与相邻分子以相同的方式结合,这些分子往往排列成螺旋状,并可无限延伸(图 4-21)。这种类型的排列可以产生细长的蛋白丝。例如,肌动蛋白丝是一条由许多肌动蛋白

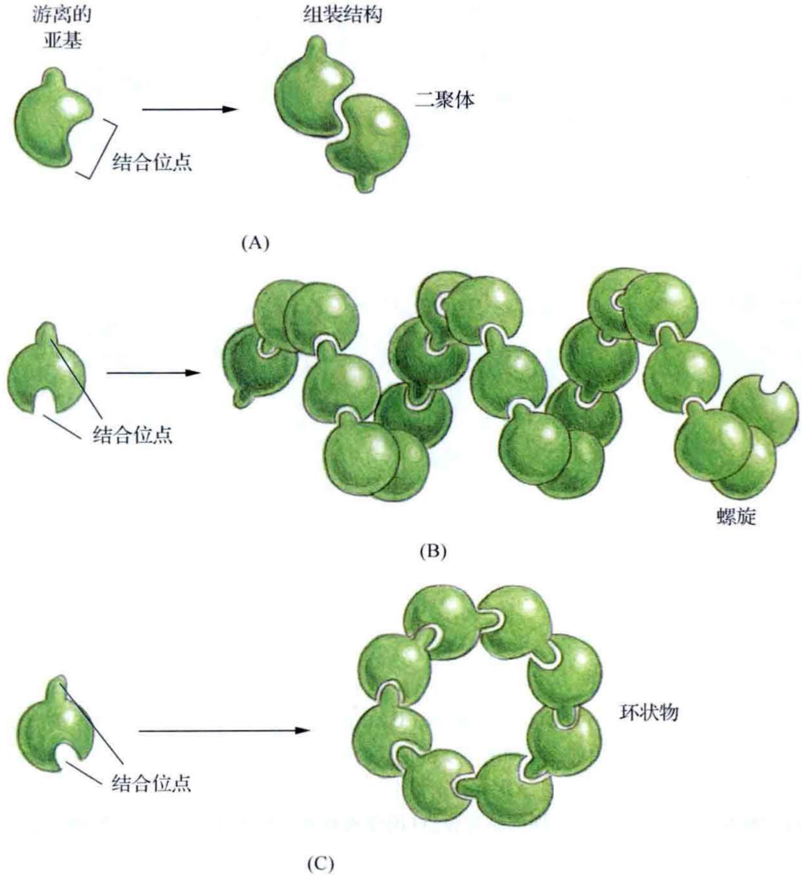


图 4-21 蛋白质装配形成复杂的结构。(A) 仅有一个结合位点的蛋白质能与另一个完全相同的蛋白质形成二聚体。(B) 具有两个不同结合位点的同一类蛋白质通常形成一条长长的螺旋蛋白丝。(C) 如果两个结合位点之间的排列适当,那么这些蛋白质亚基将形成一个闭合的环状物而不是螺旋状物(图 4-19B)。

分子组成的长长的螺旋结构(图 4-22)。在真核细胞中,肌动蛋白的含量极其丰富,它是形成细胞骨架的主要的蛋白丝系统之一(详见第 17 章)。另外的几组蛋白质结合形成细长的片层或管道,如细胞骨架中的微管(图 4-23);或是形成类似于病毒颗粒的蛋白质外壳那样的球形外壳(图 4-24)。

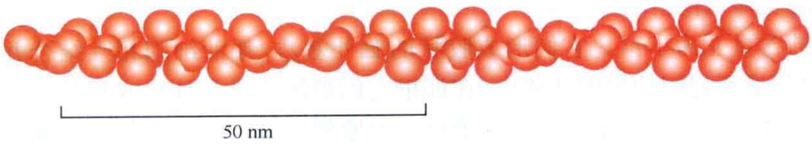


图 4-22 完全相同的蛋白亚基组成一条肌动蛋白丝。肌动蛋白分子的螺旋排列通常包含数千个分子,且在细胞中延伸至几微米。

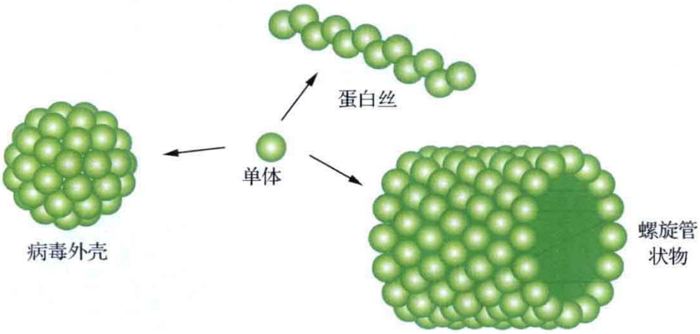


图 4-23 单个蛋白亚基能够装配形成一条蛋白丝、一根管状物或者一个球面。

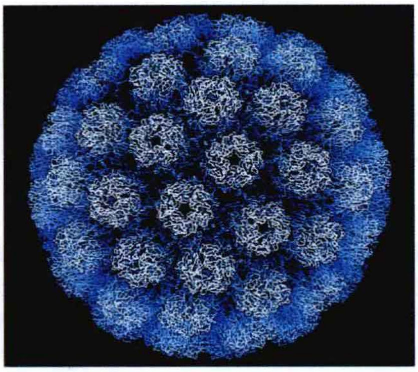


图 4-24 许多病毒的衣壳或多或少是球状的蛋白组装物。这些衣壳蛋白是由一组蛋白亚基的多个拷贝形成的多面体。病毒的核酸分子(DNA 或 RNA)被包裹在里面。图示是通过 X 射线晶体学的方法确定的猿猴病毒 SV40 的结构,目前我们已充分了解它在原子水平上的详细情况。(本图蒙 Robert Grant、Stephan Crainic 和 James M. Hogle 惠许)

许多像病毒和核糖体这样的大型结构,通常是由一种或多种类型的蛋白质结合 RNA 或 DNA 分子而成的复合物。这些结构能够被纯化和分离,并被解离成它们的组成分子。如果将这些分离开的组分重新混合在一起,就可能看到它们自发重新组成原始的结构。这说明组装复杂结构所需的全部信息都包含在大分子自身里。这类实验说明一个细胞的许多结构都是自行组织的:如果所需的蛋白质业已具备,就会形成合适的结构。

4.1.12 一些类型的蛋白质具有伸长的纤维形状

至目前为止,我们所讨论的蛋白质大多数是**球状蛋白**,它的多肽链折叠形成一个致密的、具有不规则表面的球形。大多数的蛋白酶都是球蛋白,尽管许多种蛋白酶大而复杂,而且具有多个亚基,但它们绝大多数都呈球形(图 4-9)。相比之下,其他一些蛋白分子因其在细胞中发挥的作用就需要它们跨越一段很长的距离。这些蛋白质通常具有相对简单、细长的三维结构,它们通常被称为**纤维蛋白**。

有一大类胞间纤维蛋白很像我们以前提及的α-角蛋白。角蛋白丝极度稳定：毛发、角、指甲等长寿命结构主要由这类蛋白质构成。一个角蛋白分子是由两个完全相同的亚基组成的二聚体，其中每个亚基的长长的α螺旋形成一个卷曲螺旋(图 4-13)。这些卷曲螺旋的两端都加上了包含结合位点的球形结构域，使它们能组装形成绳状的*中间丝*。而中间丝是一种细胞骨架的组分，为细胞内部提供结构上的支撑(详见第 17 章)。

在细胞外部，纤维蛋白的含量尤为丰富。它们形成胶状的*胞外基质*，帮助细胞相互结合并形成组织。细胞将这些蛋白分泌到它们的周围环境中，在那里它们被组装成为片状或长长的纤维丝。在动物组织中，*胶原蛋白*是含量最为丰富的纤维蛋白。胶原蛋白分子由三条长长的多肽链构成，每一条多肽链的每逢第三个氨基酸残基是非极性的甘氨酸。这种规则的结构使得肽链之间相互缠绕进而形成长而规则的三股螺旋，而甘氨酸处于中心部位(图 4-25A)。许多胶原分子以肩并肩和首尾相连的方式结合形成长长的重复排列，因而产生能将组织连接在一起的高强度的胶原纤维(详见第 19 章)。

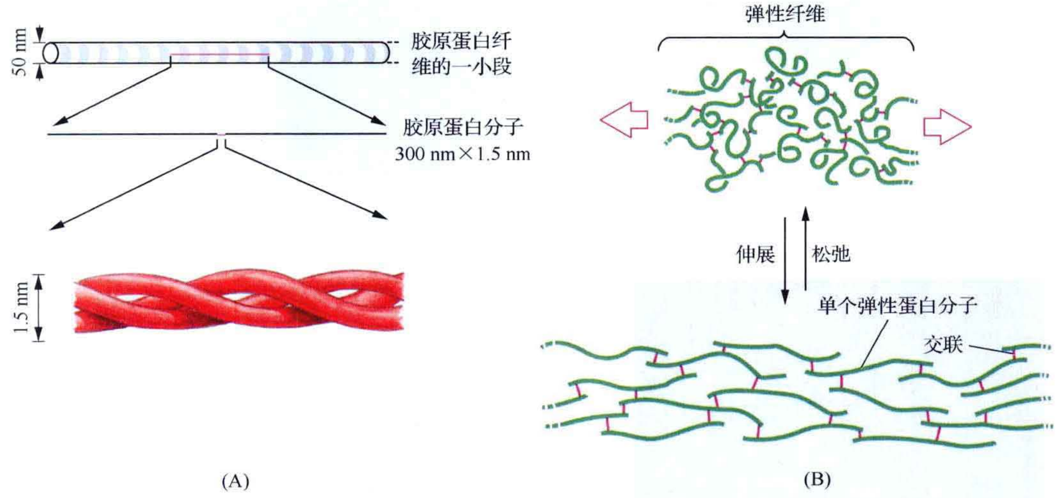


图 4-25 胶原蛋白和弹性蛋白是含量丰富的纤维状蛋白。(A) 胶原蛋白是由三条伸展的肽链相互缠绕而成的螺旋状物。在胞外空间中，许多棒状的胶原蛋白分子相互交联形成高强度的胶原纤维(左上图)，但具有刚性张力强度。胶原蛋白分子在胶原纤维内部规则的重复排列，导致产生胶原纤维上的条纹。(B) 弹性蛋白多肽链之间相互交联，形成橡皮状的弹性纤维。当纤维被拉伸时，每个弹性蛋白分子拉直，从而形成更为舒展的构象。一旦拉伸的力量松开时，弹性蛋白分子马上又会自发地再卷曲起来。

与胶原蛋白形成鲜明对比的是胞外基质中的*弹性蛋白*。弹性蛋白分子由相对松散、无特定结构并且共价交联形成橡胶状的弹性网络的多肽链组成。最终产生的弹性纤维能使皮肤和其他组织(如动脉和肺)伸缩自如却又不被撕裂。正如图 4-25B 所示，弹性源于单个蛋白质分子被拉伸时产生的可逆性伸展的能力。

4.1.13 胞外蛋白常因共价交联而得以稳定

许多蛋白质分子或是黏附在细胞的质膜外侧，或是作为胞外基质的一部分而被分泌。所有这类蛋白质均直接暴露在胞外环境中。为了有助于维持其结构，这类蛋白质中的多肽链通常通过共价交联而得以稳定。这些交联既能连接同一个蛋白质的两个氨基酸，又能连接多亚基蛋白质的不同多肽链。在蛋白质中，最常见的交联方式是共价 S—S 键。这些**二硫键**(也称为 S—S 键)在蛋白质将要从细胞中释放出来时形成，是由内质网中一种特殊的酶所催化，这个酶能连接折叠了的蛋白质中相邻的半胱氨酸侧链的两个—SH(图 4-26)。二硫键并不改变蛋白质的构

象，但能以“原子钩环”的角色加固其相应的构象。例如，眼泪、唾液和其他分泌物中的一种能溶解细菌细胞壁的酶——溶菌酶能长时间保持抗菌活性，这是因为它被这样的交联(二硫键)所稳定的缘故。

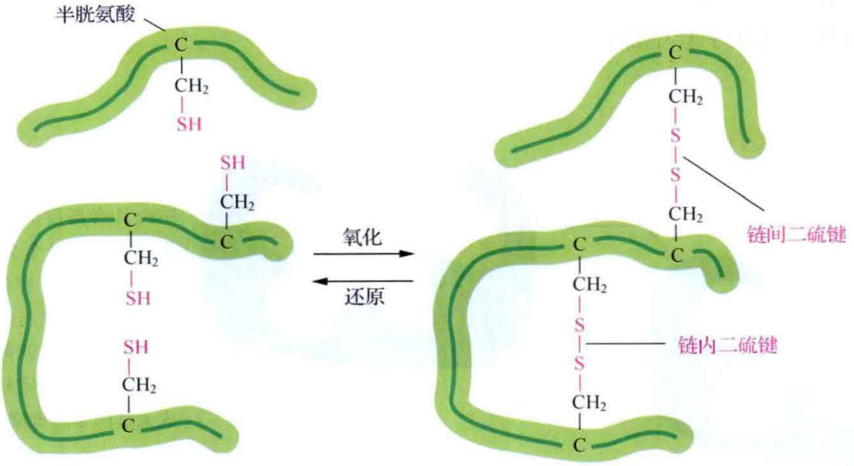


图 4-26　二硫键帮助蛋白构象变得更稳定。该图显示了相邻的半胱氨酸侧链之间如何形成二硫键。如图所示，这些交联能把同一个多肽链的两个部分或不同多肽链连在一起。由于断开一个共价键所需的能量要远远高于断开一组非共价键所需的能量(表 2-1)，故而二硫键主要起到稳定蛋白构象的作用(视频 4.6)。

二硫键通常不能在胞质溶胶中形成，这是因为在胞质溶胶中有一种高浓度的还原剂能将这种化学键变回至半胱氨酸的—SH。显然，在细胞内相对温和的环境中，蛋白质并不需要这类结构上的加固物。

4.2　蛋白质如何发挥作用

蛋白质并不是一块块无用的材料。它们不同的氨基酸序列产生了极为丰富的蛋白形状，每一种形状都具有由化学基团构成的独特的表面形态。蛋白质的每一种空间构象都赋予其特定的功能。这种结构、化学和活性上的联合使蛋白质具有特别的能力来协调活细胞中的动态过程。

因此，对蛋白质来说，形成和功能是密不可分的。但根本性的问题在于，蛋白质是如何履行它们的功能的？在本节中，我们将了解到蛋白质的活性依赖于它们特异性结合其他分子的能力，从而使它们成为催化剂、信号受体以及微型马达蛋白。在这里，我们所举的例子无法囊括蛋白质繁多的功能特性。然而，在本书的任何章节中，你所遇到的许多蛋白质的特性都是基于同一个原理的。

4.2.1　蛋白质结合其他分子

一个蛋白分子的生物学特性依赖于它与其他分子之间的物理相互作用。例如，抗体附着在病毒或细菌上作为机体防御的一部分；己糖激酶结合葡萄糖和 ATP，从而催化两者间的反应；肌动蛋白分子相互结合组装成为肌动蛋白丝；等等。事实上，所有蛋白质均能黏附或结合其他分子。在某些情况下，这种结合相当紧密；而在另一些情况下，却表现得相当弱而短暂。正如我们在第 3 章中所看到的那样，酶对底物的结合能力用 K_M 值来表示：K_M 越小，结合越紧密。不管强度如何，蛋白与其他分子的结合能力通常具有很强的专一性：每种蛋白分子仅能结合它所遇到的数千种分子中的一种或少数几种。不管是离子、小分子还是大分子，任何被蛋白质结合

的物质均被称为该蛋白的一种**配体**(源自拉丁文 *ligare*,意思是"结合")。

蛋白质与某种配体选择性地紧密结合的能力,是由于形成了几种弱的非共价键,这包括氢键、离子键和范德华力,以及适当的疏水性的相互作用(图版 2-7)。单个非共价键很弱,因此有效的相互作用需要许多弱键同时形成。而这种情况仅在配体分子的表面与蛋白质完全吻合时才有可能,就像手伸在手套中那样(图 4-27)。

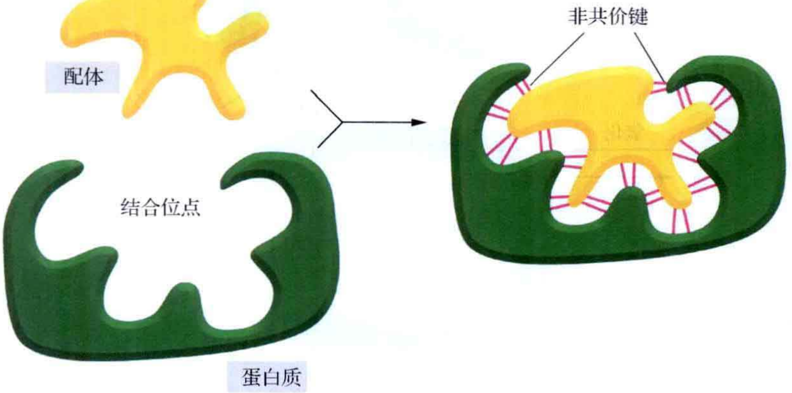


图 4-27 蛋白质与另一分子的结合具有高度的选择性。一个蛋白质与另一个分子(配体)紧密结合时需要有许多个弱键。因此,配体必须与蛋白质的结合位点精确匹配,就像手与手套那样,以使得蛋白质和配体之间形成大量的非共价键。

如果蛋白与配体分子之间不具有匹配的表面,那么几乎不能形成非共价键,两种分子一经接触就迅速解离了。这就防止了不匹配分子之间错误和不必要的结合。再者,当许多非共价键形成时,分子间的结合就能持续相当长的一段时间(图 4-28)。当生物学功能需要分子紧密结合并持续很长时间时,细胞中总是发生强相互作用,例如,当一组生物大分子聚集在一起,形成一个如核糖体那样的亚细胞结构。

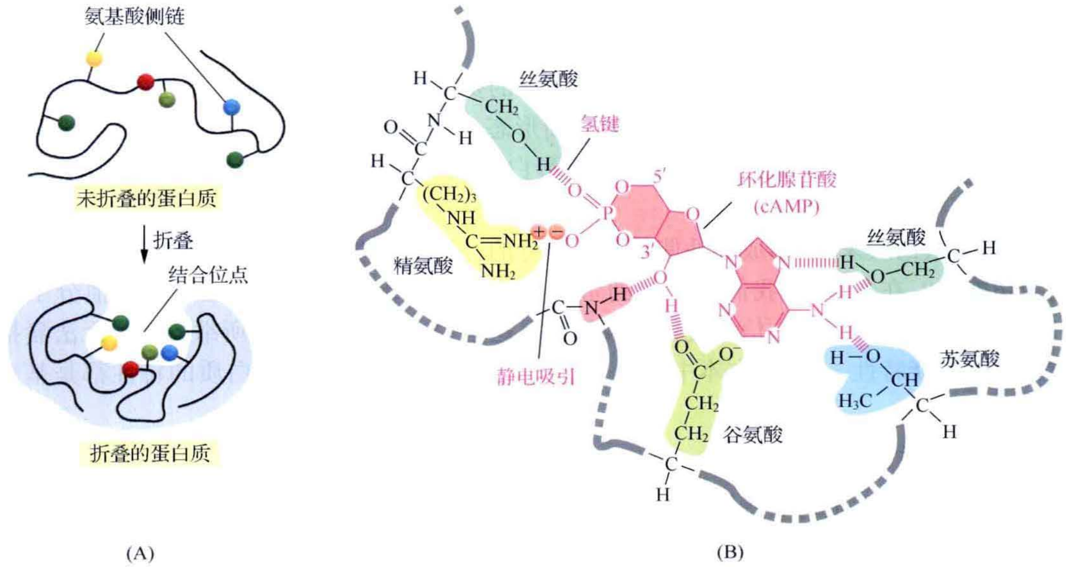


图 4-28 结合位点使蛋白与特定的配体相互作用。(A)多肽链的折叠往往在蛋白质表面产生一处裂隙或空腔。这个裂隙包含一组氨基酸侧链,它们的排列方式使得它们仅能与特定的配体形成一系列的非共价键。(B)蛋白质与其配体之间以氢键和离子相互作用形成真正的结合位点的明细图。(在这个例子中,所结合的配体是 cAMP,用粉色标示)

蛋白质与配体的结合区域被称为**结合部位**,通常由蛋白质表面氨基酸特定排列形成的腔体

构成。这些氨基酸可以是多肽链上相距甚远的几段区域，当蛋白质折叠时，它们聚集在一起（图 4-28）。蛋白质表面的另一些区域通常为不同的配体提供结合部位，进而调节该蛋白质的活性，这些内容我们将在下文中加以描述。蛋白质的其他部分是将蛋白定位在细胞内特定位置所必需的，例如，跨膜蛋白的疏水性 α 螺旋能使跨膜蛋白插入到细胞膜的脂双层中（第 11 章）。

尽管蛋白质内部的原子与配体之间不存在直接的相互作用，但它们却为蛋白质的外观和化学特性提供了必需的框架。即便蛋白质分子内部的氨基酸只发生微小的变化，也会改变蛋白质的三维构象并破坏它所执行的生物学功能。

4.2.2 抗体结合位点极为多样化

所有的蛋白质必须与特定的配体相结合，才能执行多种的功能。但这种结合能力在抗体家族的蛋白质中似乎得到了最高程度的发展：我们的身体有产生特定抗体分子的能力，这种抗体分子几乎能识别和结合任何想象得到的分子。

抗体，又称免疫球蛋白，它是由免疫系统针对如外源微生物的表面分子等诸多的外界分子而产生的蛋白质。每一种抗体与一种特定的目标分子紧密结合，从而使目标分子直接失活，或加以标记以便破坏它。抗体识别目标分子（称为**抗原**）有很强的专一性。正因为一个人可能会遇到数以亿计的不同抗原，所以我们必须能够产生数以亿计的抗体。

抗体分子呈 Y 形，具有两个相同的结合部位，每个位点均与抗原分子表面的一小部分互补。通过检测，发现抗体的抗原结合部位由几个多肽链环组成，而这些多肽环从一对紧密并排的蛋白结构域的末端突起（图 4-29）。通过不改变抗体基本结构的突变，可以使这些环上的氨基

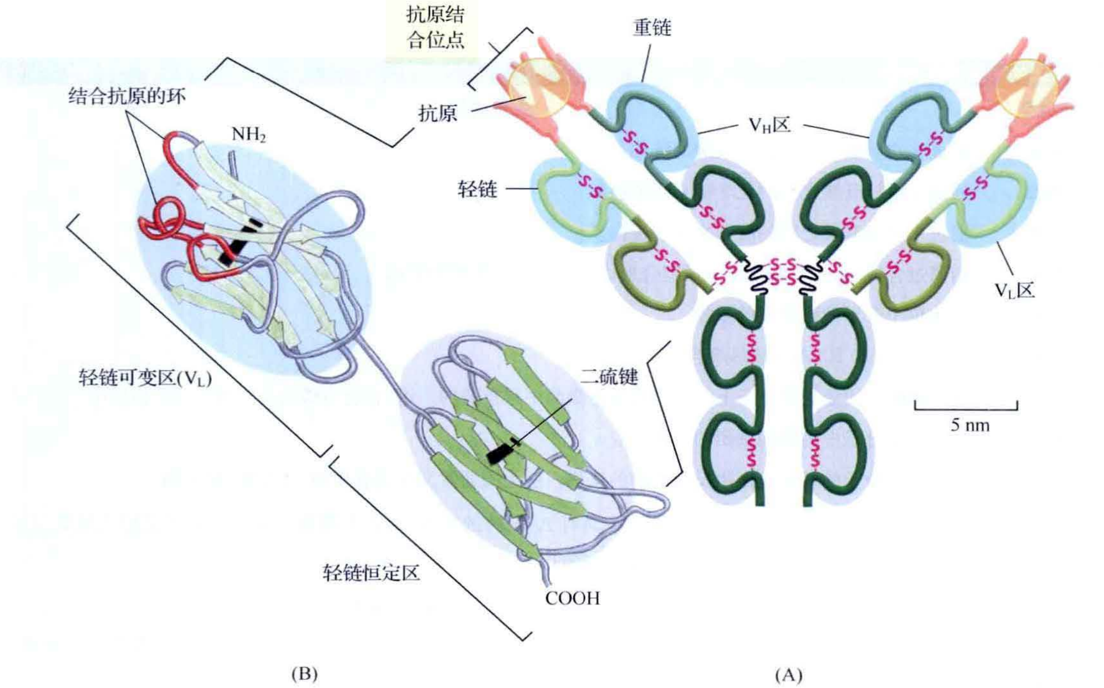


图 4-29 Y 形的抗体具有两个同样的抗原结合位点，各自分别位于 Y 形的两条臂上。（A）一个典型的抗体分子的示意图。这个蛋白质有四条多肽链（两条完全相同的重链和两条相同但稍小的轻链），它们分别通过两个二硫键连接而成。每条链由几个不同的结构域组成，在图中以蓝色或灰色阴影表示。重链可变区（V_H）和轻链可变区（V_L）靠近在一起，形成抗原结合位点。在不同的抗体中，可变区的序列和结构最不相同。（B）一条轻链的条带模型，红色部分代表与抗原紧密结合的轻链可变区；这些区域构成了图（A）中每个抗原分子周围的指状环的一半。

酸序列发生改变。故而，通过仅仅改变环的长度及环的氨基酸序列就能产生抗原结合部位的多样性，这也是不同抗体具有广泛多样性的成因。

抗体是具有特异性和多样性的独特组合，它们不但对于抵抗外界感染是不可或缺的，而且在实验研究中也颇有价值。在实验室中，抗体能够被用来纯化和研究其他的分子(图版 4-3)。

4.2.3 酶是强有力且高度专一的催化剂

对于许多蛋白质来说，结合另一种分子是它唯一的功能。抗体分子仅仅需要与细菌或病毒表面上的目标蛋白结合，这就是它们的功能；肌动蛋白分子只需要结合其他肌动蛋白分子就能形成微丝。然而，尚有一些蛋白质，对它们来说结合配体仅仅是其功能发挥所必需的第一步。对于十分重要的一大类称为酶的蛋白质来说，情况就是这样。酶是细胞中进行各种化学转化的重要分子。酶与一个或多个被称作底物的配体结合，使其转化为经过化学修饰的产物，并以惊人的速度重复这种过程。正如我们在第 3 章中所述，酶通常能以百万倍以上的数量级增加反应的速率，而其本身并不被改变。也就是说，它们是催化剂，可以允许细胞随意生成或破坏共价键。正是酶对一系列有组织的化学反应的催化作用，才能创造并维持细胞，也使生命成为可能。

按其催化的化学反应，酶可分成几个大类(表 4-1)。每种类型的酶只能高度专一地催化一种类型的反应。因此，己糖激酶能给 D-葡萄糖加上一个磷酸基团，而对其光学异构体 L-葡萄糖则“视而不见”；血液凝结酶——凝血酶仅仅能够剪切某一类血红蛋白中特定的精氨酸与其相邻的甘氨酸，其余位点均不行。正如我们在第 3 章中所详细讨论的那样，酶通常成串地发挥作用，一种酶的产物成为另一个酶的底物。其结果是形成一个由多个代谢途径组成的精细网络，它能为细胞提供所需的能量并产生各种大小分子。

表 4-1 酶的一些基本类型

酶的类型	生化功能
水解酶	指催化水解剪切反应的一类酶的统称
核酸酶	通过水解核苷酸之间的化学键来降解核酸
蛋白酶	通过水解氨基酸之间的肽键来降解蛋白质
合成酶	指通过合成反应，将两个小分子缩合形成大分子的一类酶的统称
异构酶	催化单个分子的化学键的重排
聚合酶	催化 DNA 和 RNA 合成等聚合反应
激酶	催化磷酸基团添加到分子上。蛋白激酶是激酶中很重要的一组，它能将磷酸基团加入到蛋白质中
磷酸酶	催化去除分子中的磷酸基团的水解反应
氧化-还原酶	指能催化分子的氧化或还原反应的酶的统称。这类酶通常又称为氧化酶、还原酶、脱氢酶
ATP 酶	水解 ATP。许多执行各种功能的蛋白质具有 ATP 酶的活性，以产生能量。这其中包括诸如肌球蛋白在内的马达蛋白和诸如钾-钠泵在内的膜转运蛋白

酶的命名通常以“-ase”作为结尾。但也有某些酶例外，如胃蛋白酶、凝血酶、溶菌酶等，它们都是在 19 世纪末酶的命名法则被普遍接受之前就已经被发现和命名了。一个酶的名称通常显示了底物和所催化反应的本质。例如，柠檬酸合成酶通过催化乙酰 CoA 和草酰乙酸之间的反应来合成柠檬酸。

4.2.4 溶菌酶揭示了酶的工作机制

在蛋清、唾液、眼泪和其他分泌物中，溶菌酶是天然的抗生素。下面，我们将以溶菌酶为例来解释酶是如何催化化学反应的。溶菌酶催化细菌胞壁中多糖链的断裂。由于细菌细胞承受着渗透压，因而哪怕切断一小部分的多糖链也会引起细胞壁的破裂和细菌的崩解。溶菌酶是一

种相对小而稳定的蛋白质，易于大量分离。正是由于这些原因，它被广泛地研究，并且是第一个用 X 射线晶体学的技术从原子水平上搞清其结构的酶。

溶菌酶催化的反应是水解反应：它在多糖链中两个相邻糖基之间的单键上加入一分子水，致使这个单键发生断裂。这一反应在能量上是有利的，因为切断了的多糖链的自由能要比完整的多糖链的自由能低得多。然而，纯的多糖可以在水中保持多年而不会产生任何的水解。这是因为这些反应存在一个能量的屏障，我们称之为活化能（详见第 3 章）。为了使碰撞的水分子能够打断一根连接两分子糖的化学键，多糖分子必须变为一种特定的状态——**过渡状态**。在过渡状态中，化学键附近的那些原子的几何形状和电子分布发生了改变。要使糖分子发生这样的变化，就需要通过分子随机碰撞的方式输入大量的能量。在室温条件下的水溶液中，这种碰撞产生的能量几乎从来不会超过活化能。因此，如果真的有一点水解，也进行得极其缓慢。

这就是酶所起的作用之处。像所有的酶一样，溶菌酶的表面有一个特殊的结合位点，被称为**活性位点**。活性位点可以精确地吻合底物分子的形状，并在此发生化学催化反应。由于溶菌酶的底物是多聚体，因此溶菌酶的活性位点是一个可同时容纳六个相连的糖的长凹槽。一旦与多糖结合形成酶-底物复合物后，溶菌酶就通过在糖苷键之间加入一个水分子来切断多糖。之后，切断的多糖链被迅速解离开来，并释放出溶菌酶用于进一步的循环反应（图 4-30）。

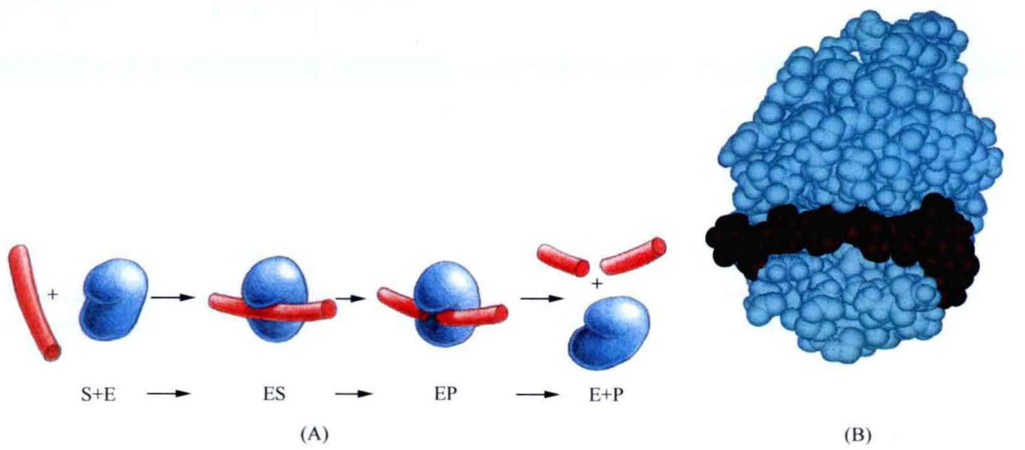


图 4-30　溶菌酶切割多糖链。（A）E 代表溶菌酶，它催化多糖链的切割。S 代表溶菌酶的底物。首先，酶结合到多糖链上形成酶与底物的复合物（ES），然后催化多糖主链上某个特定的共价键的剪切，从而形成酶与产物的复合物（EP），然后迅速解离。产物 P 释放出来后，留下游离态的酶继续作用于另一个底物分子。（B）在发生剪切之前，溶菌酶分子结合较短的多糖链的空间填充模型。（图 B 承蒙 Richard J. Feldmann 惠许）

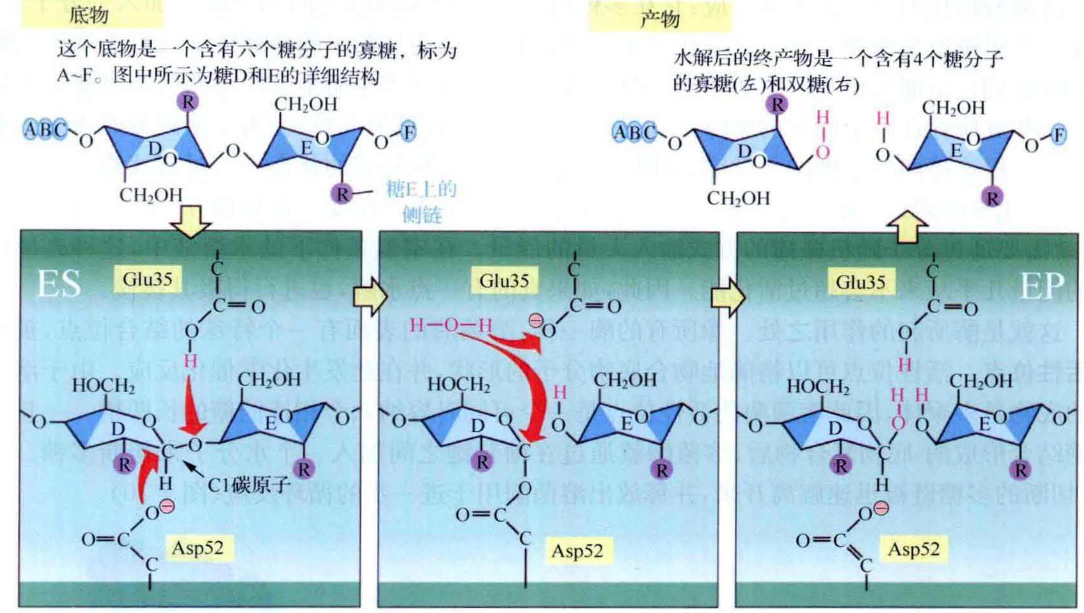
溶菌酶与底物结合的化学基础与抗体结合的化学基础相同，即形成多个非共价键。然而，溶菌酶以某种特定的方式结合它的多糖链底物，被剪切的其中一个糖分子原有的稳定构象发生了扭曲。被切断的糖苷键还与带酸性侧链的两个氨基酸靠得很近：活性位点内的谷氨酸和天冬氨酸。

因此，溶菌酶活性位点所形成的微环境显著降低了水解发生所需的活化能。图 4-31 显示了这个酶催反应的主要步骤。

（1）酶使其结合的底物处于受力状态（图中以六元糖为例），一个糖分子中一些关键的化学键发生扭曲，故而使这个糖分子的形状更接近于反应过程中将要形成的高能过渡状态。

（2）带负电荷的天冬氨酸与糖分子上 C1 碳原子发生反应，切断糖苷键，并使天冬氨酸与切断后的糖苷键共价相连。

(3) 在带负电荷的谷氨酸的帮助下，一个水分子与 C1 碳原子发生反应，取代了天冬氨酸的位置，从而完成整个水解的过程。



在酶与底物复合物(ES)中，酶强迫糖D形成一种拉紧的构象。并在Glu35位点上通过提供一个质子(H^+)作为酸来攻击糖E上相邻的糖键，而酶上的Asp52保持攻击C1碳原子的姿态

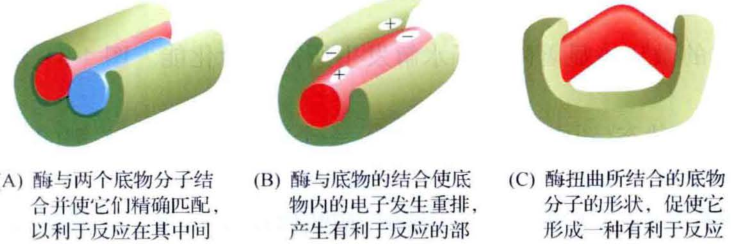
在酶的Asp52与糖D的C1碳原子之间形成一个共价键。然后，Glu35极化一个水分子(红色)，因此水的氧原子能够持续攻击糖D的C1碳原子，并取代了Asp52的位置

随着水分子(红色)的参与，水解反应完成，Asp52恢复到初始状态，并形成最终的酶与产物复合物(EP)

图 4-31 **在溶菌酶活性位点的化学键被弯曲和打断。**图的第一排分别表示游离态的底物和游离态的产物。下方的三个图描述了在糖-糖化学键断开时在酶活性位点发生的一系列事件。请注意在酶与底物复合物中糖 D 构象的改变，并与游离态的底物作比较；这个构象促进了过渡状态的形成。酶的反应和溶菌酶结合产物时的结构请参见视频 4.8 和视频 4.9。(参见 D. J. Vocadlo et al., *Nature* 412:835-838, 2001. 并获 Macmillan Publishers Ltd. 版权许可)

从最初酶表面开始结合多糖到最后释放切断的糖链，整个化学反应比没有酶参与的反应速率要快几百万倍。

其他的酶采用相似的机制来降低活化能，并加速它们催化的反应。在两个或多个底物参与的反应中，酶的活性位点还可以起到像模板或模子一样的作用，它将底物按恰当的方向聚集到一起，从而使它们之间发生反应(图 4-32A)。正如溶菌酶一样，酶的活性位点包括一些精确定位的化学基团，这些化学基团通过改变底物的电子分布而加速反应(图 4-32B)。与酶结合还可以改变底物的形状，化学键的扭曲导致底物形成一种特定的过渡状态(图 4-32C)。最后，像溶菌酶那样，许多酶大致通过在底物和酶的一个侧链之间形成共价键而参与反应。之后的几步反



(A) 酶与两个底物分子结合并使它们精确匹配，以利于反应在其中间发生

(B) 酶与底物的结合使底物内的电子发生重排，产生有利于反应的部分正负电荷

(C) 酶扭曲所结合的底物分子的形状，促使它形成一种有利于反应的过渡状态

图 4-32 **酶通过几种方式催化反应。**(A) 使底物以某种精确的排列方式结合。(B) 电荷使反应中间物更稳定。(C) 改变底物中的键角，以提高特定反应的速率。

应是酶将侧链恢复到原有状态。因而，酶在反应后并不会发生改变，它还能够继续催化更多的反应。

4.2.5　大多数的药物抑制酶的活性

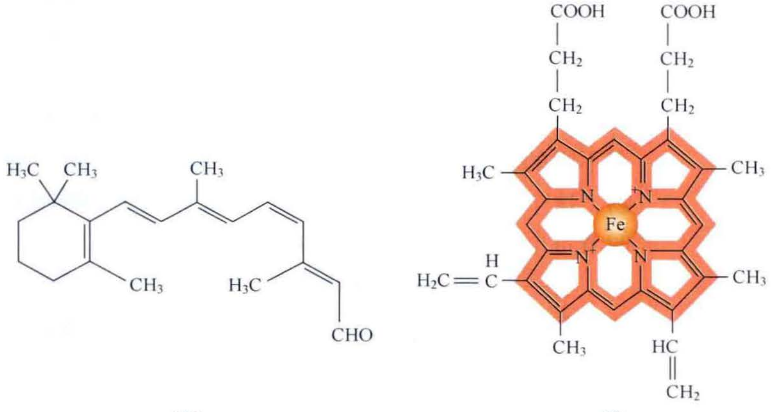
我们治疗或预防疾病时所服用的许多药物都是通过阻断特定的酶的活性而起作用的。在肝脏中，3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A（HMG-CoA）参与胆固醇的合成，降胆固醇的他汀类药物（statins）能够抑制这个酶的活性。二氢叶酸还原酶为 DNA 合成提供一种所需的化合物，而甲氨蝶呤（methotrexate）就是通过关闭二氢叶酸还原酶的活性来杀死某些类型的癌细胞。由于癌细胞失去了细胞内重要的调控系统，某些癌细胞就对阻断染色体复制的疗法尤为敏感，从而对甲氨蝶呤产生易感性。

制药公司研发药物时通常首先自动化筛选大量的化合物库，来寻找能够抑制某个酶的活性的化合物。其后，他们对该化合物进行化学修饰，使之更为有效，增强它们的结合能力和对靶蛋白的特异性。正如我们在第 20 章中所看到的那样，抗癌药物格列卫（Gleevec）特异性抑制某个激酶的活性，而这个激酶的异常将导致一种被称为慢性粒细胞白血病的癌症的产生。该药物紧密结合在这个激酶的底物结合区域，阻断了酶的活性（图 20-53）。

4.2.6　紧密结合的小分子赋予蛋白质额外的功能

尽管蛋白质的氨基酸序列赋予蛋白质多样的外形并执行不同的功能，但有时候光靠氨基酸本身是远远不够的。就像人类依靠工具来加强或拓展手的功能那样，蛋白质经常利用一些小的非蛋白质分子来执行功能，而这些功能若单靠氨基酸是非常困难甚至是不可能完成的。如光受体蛋白**视紫质**，它是视网膜上视杆细胞产生的紫色的光敏色素，通过与其赖氨酸侧链共价结合的小分子**视黄醛**来检测光线（图 4-33 A）。当视黄醛吸收一个光子时，它的形状发生改变，而视紫质放大这种变化，引发级联的酶反应，并最终将电信号传导到大脑。

另一个例子是**血红蛋白**，它含有的非蛋白组分对它的功能是必需的（图 4-20）。一分子的血红蛋白携带四个非共价结合的**血红素基团**，这些环形的分子的中心是一个铁原子（图 4-33B）。血红蛋白（和血液）正是由于血红素才呈现红色。通过铁原子可逆地结合氧气，血红素能够使血红蛋白在肺部携带氧气，而在组织中释放氧气。



(A)　　　　(B)

图 4-33　视黄醛和血红素增强某些蛋白质的功能。（A）在我们的眼睛中，附于视紫红质上的光敏感分子视黄醛的结构。（B）一个血红素基团的结构。含碳的血红素环用红色表示，中心的铁原子用橙色表示。每个血红素基团与血红蛋白的每条多肽链都紧密相连，而载氧蛋白的结构参见图 4-20。

当一些小分子共价地并永久地结合蛋白质时，它们就成为蛋白质分子的一部分。在第 11 章中，我们将看到蛋白质常常通过共价结合脂类分子而停留在细胞膜表面。暴露在细胞表面的膜蛋白以及分泌到细胞外的蛋白质，通常被糖和寡聚糖共价修饰。

同样地，酶也利用非蛋白分子：酶的活性位点经常结合一个小分子或金属原子，以帮助其完成催化功能。例如，能够切断多肽链的羧肽酶的活性位点紧密结合了一个锌离子。在羧肽酶剪切肽键的过程中，锌离子与底物中的某个原子形成一个临时性的化学键，从而辅助水解反应。在其他酶中，一个有机小分子也能起到类似的作用。例如，生物素能够将羧基基团（$—COO^-$）从一个分子转移到另一个分子上（图 3-37）。生物素通过与羧基基团形成临时性的共价键来参与这些反应，因而形成一个活化的载体分子（表 3-2）。这个小分子比任何用来组成蛋白质的氨基酸更适于完成此功能。由于生物素不能通过人类自身来合成，必须从食物中获取；因此，生物素被列为一种维生素。类似地，人体也需要其他的维生素来组成小分子，而这些小分子正是人体蛋白质的必需组分。例如，从食物中摄入的维生素 A 是形成视黄醛所必需的，而视黄醛正是视紫质的光敏感部位。

4.3 蛋白质如何被调控

迄今为止，我们已经阐释了蛋白质如何执行它们的功能：蛋白质如何结合到其他蛋白或小分子上，使之发挥它们特定的功能。但在细胞中，大多数的蛋白质和酶并不持续地或全速地起作用。取而代之的是，它们的活性以一种协同的方式被调控，以至于细胞能够维持在一个最佳状态，仅仅产生那些在当前条件下需要的小分子。通过调整蛋白质在适当的时候恰如其分地发挥作用，细胞才能确保自身不会耗尽能量，也不会积累不需要的分子或者浪费重要的底物储备。现在，我们就来介绍细胞如何调控蛋白质和酶的活性。

蛋白质活性的调控发生在多个层次。一个层次是，细胞通过控制编码这个酶的基因的表达来调控酶分子的数量（在第 8 章中加以讨论）。另一个层次是，细胞经常通过将酶限制在由膜包围的特定的亚细胞区室内来控制酶的活性（在第 14 章和第 15 章中加以讨论）。不过，用以调整反应速率的最为快速和普遍的过程是在调整酶的自身水平上进行。在以下的章节中，我们将看到尽管蛋白质能够通过许多机制来被打开和关闭，但最终都导致蛋白的形状改变进而改变它的功能。

4.3.1 酶的催化活性通常可以被其他分子调控

一个活细胞含有成千上万种酶，许多酶在胞质的同一个小区域内同时发挥作用。通过它们的催化反应，酶产生了一个由化学反应链组成的代谢途径的复杂网络。在这些化学反应中，一种酶的产物成为下一个反应的底物。在这个复杂的网络中，有许多不同的分支点。在每个分支点，酶竞争相同的底物。这个系统是如此复杂，以至于需要精细的控制来调节每个反应发生的时间和速度。

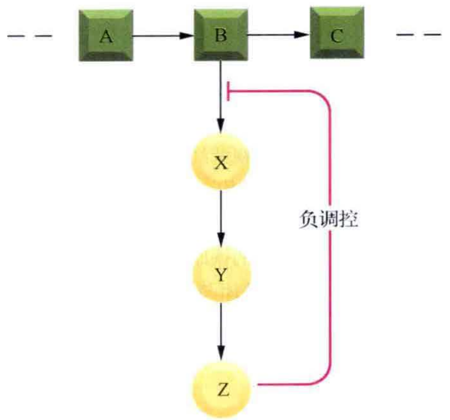


图 4-34　反馈抑制调控通过生物合成途径的流量。B 是产生终产物 Z 的第一个代谢物。而终产物 Z 专门抑制该合成反应的第一个酶，从而控制细胞内 Z 的浓度。这是一个负调控的例子。

当一个不同于底物的分子在酶活性位点以外的特定调控位点与酶结合时，发生了最为普遍的调控方式，从而改变了酶将底物转变为产物的反应速率。在**反馈抑制**中，在一个反应途径早期作用的酶被同一途径的晚期产物所抑制。因此，只要当大量的终产物开始积累时，产物结合到之前的酶上，降低了该酶的催化活性，从而限制了其他底物进入反应途径（图 4-34）。当反应途径有分支或交叉时，通常是多个

分支点由不同的终产物调控，各自分别调控自身的合成(图 4-35)。反馈抑制几乎都能在瞬时发挥作用，并可在产物的数量下降时，又迅速逆转。

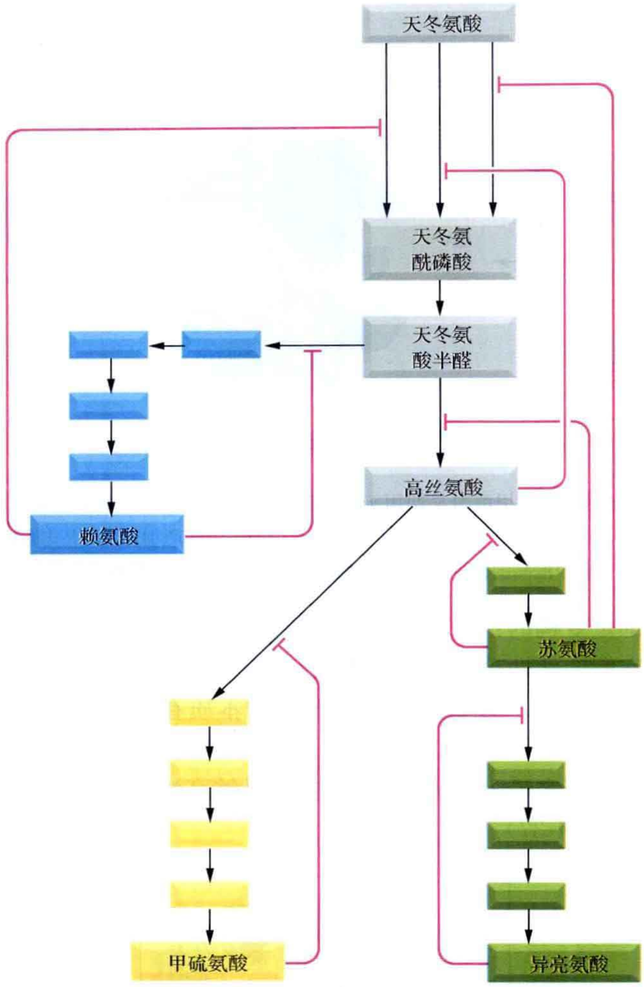


图 4-35 多位点的反馈抑制调控相连的代谢反应。 图示是细菌从天冬氨酸开始到 4 个不同氨基酸的生物合成途径。红色线条表示终产物反馈抑制酶的位置。在这个实例中，每个氨基酸都控制着与自身合成相对应的第一个酶，因此能够控制自身的水平，避免中间产物的浪费。此外，各个反应的终产物能够分别抑制起始的一套反应，这一套反应在所有合成反应中是相同的。这是因为有 3 种不同的酶催化从天冬氨酸到天冬氨酰磷酸的初始反应，而每种酶分别被不同的终产物所抑制。

反馈抑制是一种负调控：它抑制了酶的活化。酶也可以被正调控，即酶的活力能被某个调控分子激活而非抑制。当错综复杂的代谢网络中某个分支的产物增强另一途径的酶活时，就发生了正调控。例如，ADP 的积累激活了参与糖分子氧化反应的几个酶，因此刺激细胞将更多的 ADP 转化为 ATP。

4.3.2 变构酶有两个相互影响的结合位点

反馈抑制的一个特点让最初发现它的人大为困惑：调控分子的形状通常与酶的最适底物的形状完全不同。事实上，当这种调控方式在 20 世纪 60 年代被发现时，它被称为变构性(allostery，来自希腊文 *allo* 和 *stere*，意思分别为“其他的”和“固体”或“形状”)。随着对反馈抑制的深入了解，研究人员意识到许多酶的表面必定含有至少两个不同的结合位点——一个识别底物的活性位点，以及一个或多个识别调控分子的位点。此外，这两个位点一定通过某种方式相联系，以允许位于活性位点的催化事件受到结合另一个位点上的调控分子的影响。

现在已知在蛋白质分子上不同位点之间的相互作用依赖于蛋白质的构象变化：与某个位点的结合将使蛋白质的结构从一种折叠状态转变到另一种有细微差别的折叠状态。许多酶具有

两种不同活性的构象，每种构象通过与不同的配体结合而被稳定。例如，在反馈抑制中，蛋白质的某个位点结合一种抑制剂后就会改变其构象。在这种构象下，蛋白质的其他活性位点就对底物分子失去亲和力(图 4-36)。

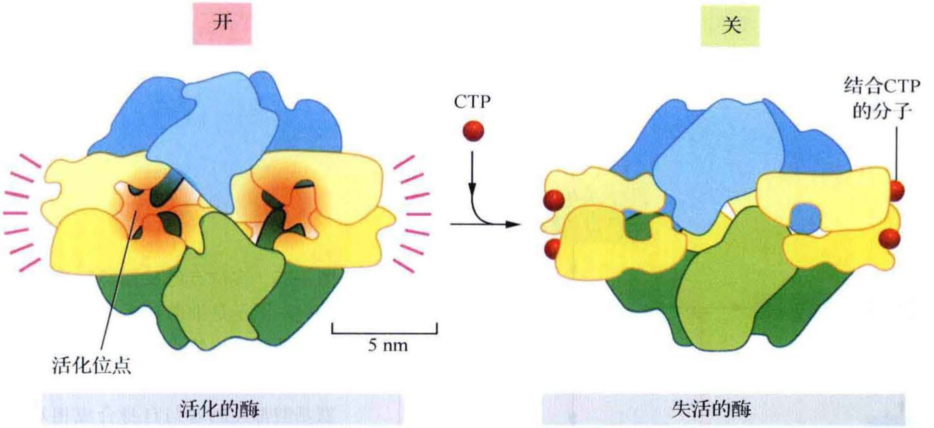


图 4-36 反馈抑制引起构象的改变。大肠杆菌中的天冬氨酸转氨甲酰酶早期用于变构调节的研究。这个大型的多亚基酶(图 4-9)催化一个从 C、U、T 嘧啶环开始合成的重要反应。三磷酸胞苷(CTP)是这个反应途径中的一个终产物，当 CTP 丰富时，它能结合酶并使其失去作用。请注意：图 4-9 是天冬氨酸转氨甲酰酶的俯视图；而这里的图是天冬氨酸转氨甲酰酶的侧视图。

许多(若不是大多数的)蛋白质分子都是**变构**的：它们具有两种或两种以上有细微差别的构象；通过从一种构象转变到另一种构象，它们的活性被调控。这不仅存在于酶，而且许多其他蛋白质也是这样，包括受体、结构蛋白和马达蛋白等。参与这个变化的化学本质在概念上是非常简单的：因为蛋白的每种构象在其表面多少有所不同，所以当蛋白质改变形状时，蛋白质的配体结合位点也将发生改变。每种配体能够稳定与之最为牢固结合的构象，足够高浓度的配体也会使蛋白质群体的构象向其最适的构象转变(图 4-37)。

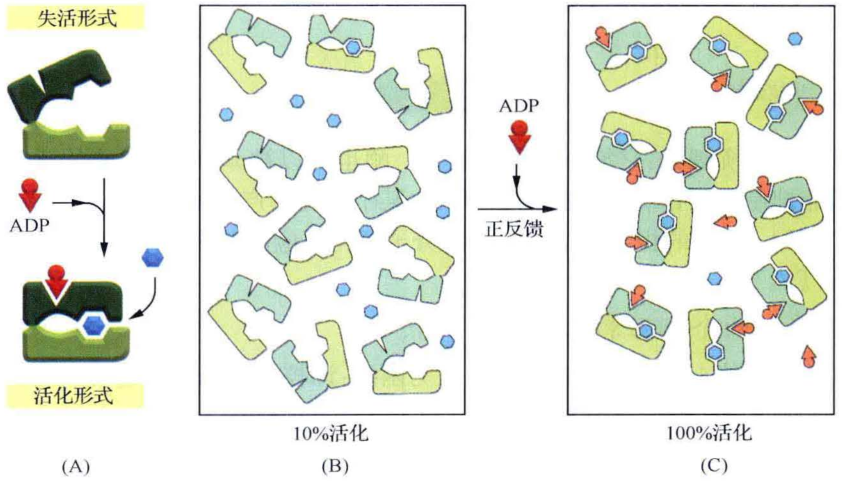


图 4-37 一个蛋白两种构象之间的平衡受到配体结合的影响。这个示意图显示一个假定的酶，其中 ADP 分子(红色楔形)浓度的增加作为一种激活因子，可加快酶催化糖分子(蓝色六角形)氧化的速度。(A)这个假定的酶受变构调节。(B)在没有 ADP 存在时，只有少部分的分子采用活化的(闭合的)构象，而大多数分子都处于一种失活的(开放的)构象。(C)因为 ADP 只能结合蛋白的闭合构象，ADP 的加入会降低闭合构象的能量，使几乎所有的酶分子都保持活化形式。这类酶可用于呼吸途径，例如，它可用来感应何时细胞内的 ADP 会增加，并增强糖的氧化反应，从而将 ADP 合成 ATP 以提供更多的能量。

4.3.3 磷酸化通过引发构象变化来调控蛋白质的活性

酶不仅仅受到所结合的小分子的调控。在真核生物中，另一种被普遍用于调控蛋白质活性的方法是将一个磷酸基团共价连接至一个氨基酸的侧链上。因为每个磷酸基团携带两个负电荷，通过酶的催化将磷酸基团加到蛋白质上能导致蛋白构象的显著变化，例如，可以通过吸引一群带正电荷的氨基酸侧链。反过来，这个构象的变化能够影响蛋白表面配体的结合，从而改变蛋白的活性。通过另一种酶去除磷酸基团，蛋白质就能恢复到最初的构象和活性。

在真核细胞中，这种可逆的**蛋白磷酸化**控制了许多不同类型的蛋白质的活性。事实上，在一个哺乳动物细胞中，蛋白的磷酸化是如此普遍，以至于在任何时候都有超过 3000 种以上的蛋白质在进行磷酸化修饰。当对引起细胞状态变化的信号发生响应时，一些特定的蛋白质上经常添加或去除磷酸基团。例如，真核细胞分裂时出现的一系列复杂事件就是用这种方式调控进程的（详见第 18 章）。此外，通过一系列蛋白磷酸化事件，由激素和神经递质产生的许多信号便从细胞质膜传递到细胞核内（详见第 16 章）。

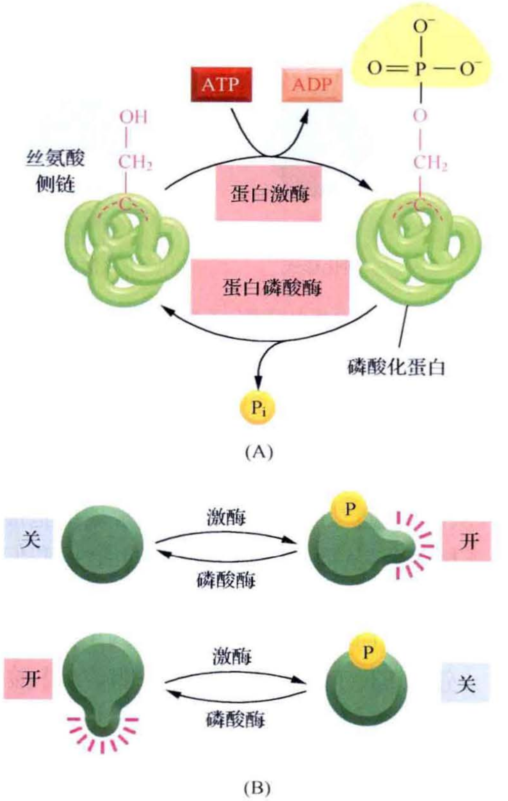


图 4-38　蛋白质的磷酸化是调控蛋白活性的常见方式。在一个典型的真核细胞中，成千上万种蛋白质可被共价结合一个或数个磷酸基团而修饰。（A）显示一个普遍的反应，通常蛋白激酶能将 ATP 上的磷酸基团转移至目标蛋白质的氨基酸侧链上。去除磷酸基团则是由另一种酶即磷酸酶催化的。在这个例子中，磷酸基团被加到丝氨酸侧链上；而在另一些情况下，磷酸基团被连接到蛋白质的苏氨酸或酪氨酸的羟基基团上。（B）蛋白激酶使蛋白质磷酸化，可以提高或降低蛋白质的活性，而这将取决于磷酸化的位点和蛋白质的结构。

蛋白质的磷酸化包括通过酶催化把 ATP 末端的磷酸基团转移到蛋白的丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸侧链的羟基基团上。这个反应通过**蛋白激酶**来催化。磷酸化的逆反应是*去磷酸化*，即去除磷酸基团，由**蛋白磷酸酶**催化（图 4-38A）。磷酸化可以激活或抑制蛋白活性，这取决于被作用的是什么蛋白质，以及被磷酸化的位点（图 4-38B）。细胞内包含了几百种不同的蛋白激酶，每种蛋白激酶负责磷酸化一种不同的蛋白质或一组不同的蛋白质。细胞内还含有许多种不同的蛋白磷酸酶，其中有些蛋白磷酸酶具有高度特异性，只能去除一种或几种蛋白的磷酸基团，而另一些则对广泛的蛋白质发挥作用。在任何时刻，一个蛋白的磷酸化状态及其活性取决于作用于该蛋白的激酶和磷酸酶的相对活性。

对许多种蛋白质而言，磷酸基团总是不断地被加到一个特定的侧链上，然后被移去，如此循环，周而复始。这种方式的磷酸化循环使蛋白质能从一种状态迅速转变为另一种状态。当蛋白质对一个能够增加磷酸化速率的突然刺激发生响应时，这种循环轮转得越快，磷酸化蛋白的浓度也变化得越快。然而，驱动这个循环所需要的能量来自于 ATP 水解所释放的自由能，每循环一次需要消耗一个 ATP 分子。

4.3.4 GTP 结合蛋白同样受到添加和去除磷酸基团的调控

真核细胞将添加和去除磷酸基团作为调控蛋白质活性的第二种手段。在这种情况下，磷酸作为鸟苷酸(GTP 或 GDP)的一部分紧密地结合到蛋白质上，而不是通过激酶将 ATP 转移到蛋白质上。当这类 **GTP 结合蛋白**与 GTP 结合时，它呈现活化的构象；该蛋白质本身将 GTP 水解成 GDP，同时释放出一个磷酸，随即就变成了一种失活的构象。与蛋白质的磷酸化作用一样，这个过程也是可逆的。与 GDP 之间解离后，该蛋白质再与一个新的 GTP 分子结合可重新获得活化的构象(图 4-39)。

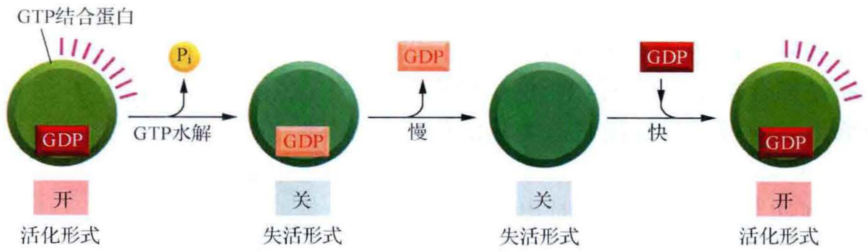


图 4-39 GTP 结合蛋白形成分子开关。 GTP 结合蛋白(绿色)的活性通常需要有一种紧密结合的 GTP 分子(打开)。水解 GTP 分子能产生 GDP 和无机磷酸(Pi)，这将使蛋白转换成失活的构象(关闭)。如图所示，重设开关需要紧密结合着的 GDP 解离下来，这是一个缓慢的步骤，却可以被特定的信号而大大加速；一旦 GDP 解离下来，一分子 GTP 就迅速地重新结合上去。

在细胞中，许多相关的 GTP 结合蛋白起到分子开关的作用。GDP 解离下来后被 GTP 替换，从而"接通"开关，这个过程经常被细胞接收到的信号所激活。GTP 结合蛋白常与其他的蛋白分子相结合，从而控制这些蛋白的活性，我们将在第 16 章中讨论它们在胞内信号通路中的关键作用。在这里，我们将通过细菌延伸因子 EF-Tu 来简要地介绍一下它的作用机制，延伸因子 EF-Tu 是一种在蛋白合成中帮助携载 tRNA 分子到核糖体上的小型 GTP 结合蛋白(在第 7 章中讨论)。

分析 EF-Tu 的三维结构表明，鸟苷酸上磷酸基团的得失所触发的变构转换是如何引起 GTP 结合蛋白的形状变化的。图 4-40 显示了单个磷酸基的缺失引起结合位点仅约 0.1 nm 的

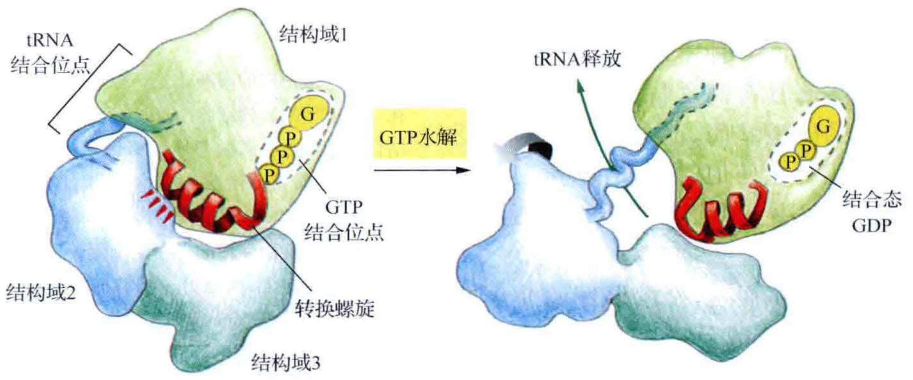


图 4-40 随着核苷酸的水解，EF-Tu 产生大的构象变化。 GTP 结合蛋白 EF-Tu 结合核糖体上的 tRNA，并在蛋白质合成的多肽链延伸过程中发挥了作用。在它的 GTP 结合形式中，EF-Tu 紧密结合 tRNA 分子。EF-Tu 中结合着的 GTP 分子的水解只能引起核苷酸结合位点上氨基酸位置的微小变化(仅相当于氢原子直径的几倍)。不过，这种微小的变化却通过蛋白质构象的改变而被放大，导致蛋白结构产生大得多的移动。GTP 的水解释放了一个像插销那样的分子内键(左侧结构图的红色短杠)，这就导致结构域 2 和 3 自由卷曲，并朝读者的方向旋转 90°。这就使蛋白结构发生显著的变化，并将继续合成蛋白质所必需的 tRNA 释放出来(视频 4.10)。这些结构通过 X 射线晶体学的方法来测定。

微小移动，它是如何被该蛋白质放大而产生 50 倍的位移的。这类显著的形状改变同时也构成了这类蛋白质能够产生巨大位移的基础，这些内容我们将在下面的章节中加以讨论。

4.3.5 核苷酸的水解促使细胞中的马达蛋白产生大的位移

我们已经知道蛋白质的构象变化对酶的调节和在细胞信号转导过程中发挥了核心的作用。不过，构象变化也在细胞活动中发挥了另一个重要的作用：它们能使马达蛋白搬运其他的分子，从而产生肌肉收缩和许多细胞运动的动力。马达蛋白也为小规模的胞内运动提供动力：在有丝分裂过程中，它们帮助染色体移动到细胞的两极（详见第 18 章），并帮助细胞器在细胞内沿轨道运行（详见第 17 章）。同时在新的 DNA 分子合成过程中，马达蛋白帮助酶沿着一条 DNA 链移动（详见第 6 章）。因此，了解蛋白质如何作为具有运动能力的分子起作用，对理解细胞行为的分子基础是很重要的。

蛋白质的形态改变如何被用来产生细胞内的有序运动呢？例如，倘若蛋白质需要沿着像 DNA 分子那样的细线移动，它可通过经历一系列构象的变化来完成（图 4-41）。然而，如果没有事物促使这些变化只按一个方向有序进行，它们会是完全可逆的，蛋白质将随机地来回变换构象。

为了使一个蛋白质产生一系列单向的构象变化，促使整个循环沿一个方向进行，我们只需要让构象变化的任意一步不可逆就可以了。对大多数能沿一个方向移动较长距离的蛋白质来说，这种不可逆性是通过将某个构象变化和结合在蛋白质上的 ATP 分子的水解作用耦合起来而实现的，这些内容已在图 4-42 的模式图中加以说明。这种机制与由 GTP 水解驱动构象改变的机制相似。因为 ATP（或 GTP）水解时会释放出大量的自由能，核苷酸结合蛋白不可能经历一种相反的形态变化而反向运动。这是因为逆转 ATP 的水解作用需要通过在 ADP 上加一个磷酸基团而形成 ATP，而这种行为在热力学上是不利的，因而也是不可能的。其结果是，蛋白快速向前移动。

许多马达蛋白以这种普遍的方式产生定向的运动，这包括*肌球蛋白*和*驱动蛋白*。肌肉的马达蛋白*肌球蛋白*沿着肌动蛋白丝“奔跑”而产生肌肉收缩（详见第 17 章）。*驱动蛋白*在有丝分裂过程中参与染色体的移动（详见第 18 章）。这类运动可以是快速的：有些参与 DNA 复制的马达蛋白驱动它们自己沿着 DNA 链以每秒 1000 个核苷酸的速度移动。

4.3.6 蛋白质通常形成大型复合物，起蛋白质机器的作用

随着从单个结构域的小分子蛋白质演变到由多个结构域构成的大分子蛋白质，蛋白质所执行的功能也变得越来越精巧。然而，令人印象最深的任务却是由许多蛋白质分子组成的大分子蛋白复合物来完成的。目前，在实验室的无细胞体系中可以重建某些生命过程。细胞中的每一个核心步骤，例如，DNA 复制、蛋白合成、小泡出芽、跨膜信号转导，显然都是由十个或数十个高度协调、相互联系的蛋白质来催化完成的。在大多数的这类**蛋白质机器**中，核苷三磷酸（ATP 或 GTP）的水解驱动部分的蛋白亚基单体发生一系列有序的构象变化，从而使蛋白整体上能够步调一致地移动。通过这种方式，特定的酶就能被直接转移到需要它们完成一系列连续化学反应的位置上，如核糖体上蛋白质的合成（详见第 7 章），或者 DNA 复制——一个巨大的蛋白复合物沿着 DNA 快速移动。图 4-43 显示了一个大致的、机制上的简图。

通过进化，细胞建立了能够执行大多数生物反应的蛋白质机器。正如人类发明机械和电子器械那样，细胞也使用蛋白质机器：为了完成几乎所有工作，在相互联系的步骤中，时空上相互协调的操作要比连续使用单一的工具有效得多。

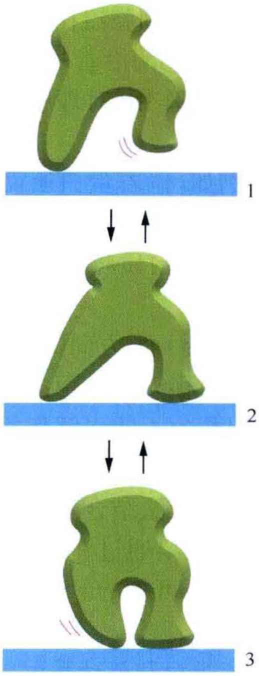


图 4-41 构象的变化使蛋白质沿着一根丝或线"行走"。当蛋白质与丝或线结合时，它的三种不同构象允许它在丝或线上来回地随机"漫步"。但如果没有能量的输入来驱动它朝一个方向移动，该蛋白质只能漫无目的地来回移动，而不能到达任何地方。

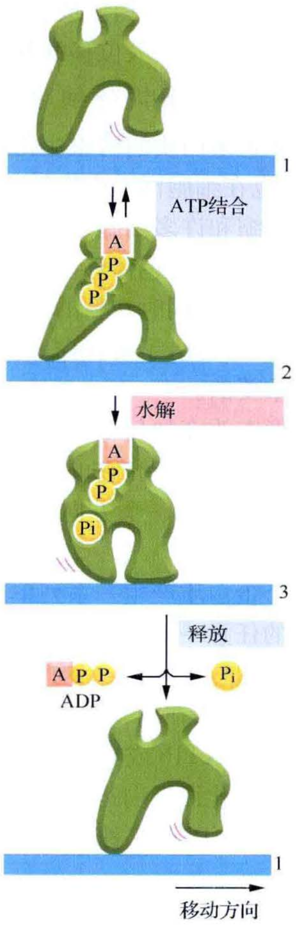


图 4-42 在 ATP 水解的驱动下，一个变构的马达蛋白朝着一个方向移动。马达蛋白三种构象的有序转换由结合着的 ATP 分子的水解来驱动。由于这些转换中的其中一种——从构象 2 转换成构象 3——与 ATP 的水解相偶联，所以整个循环在本质上是不可逆的。这个过程循环进行，马达蛋白就沿着线不断地向右移动。

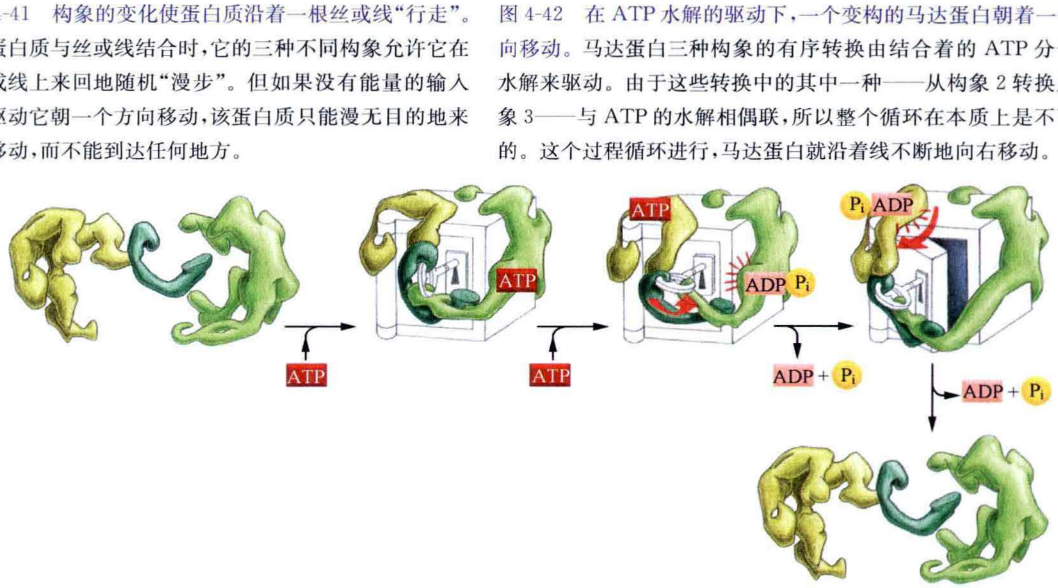


图 4-43 "蛋白机器"能够执行复杂的功能。这些机器由单个蛋白质组成，协同执行一项特殊的任务(视频 4.11)。这些蛋白质的移动通常与所结合的核苷酸的水解相协调(图 4-40)。若发生在一个大的蛋白质装配体内，这种类型的构象变化对细胞尤为有利。在那里，复合物内的移动能够协调几种不同蛋白质分子的活性。

4.3.7 共价修饰调控蛋白质机器的定位和装配

在细胞的生命活动中，蛋白质机器和其他蛋白复合物发挥了重要的作用。不过这些复合物并不是预先装配好并呆在细胞内等待安排工作的。近年来，已经阐明大多数蛋白质机器在细胞的特定位点上才会形成，并且只有当它们需要时才会被激活。这种变化一般通过在参与蛋白的特定侧链氨基酸上共价添加一个修饰基团来完成。

细胞中存在着超过 200 种共价修饰，每种共价修饰都协助调控蛋白的功能。到现在为止，我们关注的是磷酸基团的添加和去除。正如我们之前所看到的那样，磷酸化可以增加或减少一个蛋白的活性(图 4-38)。不过，磷酸化还能促进蛋白组装成为大分子复合物。例如，胞外信号促使受体酪氨酸激酶这类跨膜蛋白的磷酸化，这种磷酸化通常引起胞内的信号蛋白复合物的装配和活化，信号随之传递并产生细胞生长或分裂(图 16-30)。另一些共价修饰具有不同的调节功能。将脂肪酸棕榈酸酯添加到半胱氨酸残基上可以促使某些蛋白结合到细胞膜上。偶联 76 个氨基酸的泛素能够使靶蛋白发生降解，这些内容将在第 7 章中加以阐述。这些化学基团都是根据细胞的需求通过酶反应来添加或去除的。

目前已知许多蛋白的多个氨基酸侧链都被修饰了。在调控细胞如何响应 DNA 损伤中，p53 蛋白发挥了关键性的作用，它有 20 个不同位点被修饰(图 4-44)。由于这 20 种修饰的排列组合是个非常巨大的数字，理论上 p53 的功能无可限量。

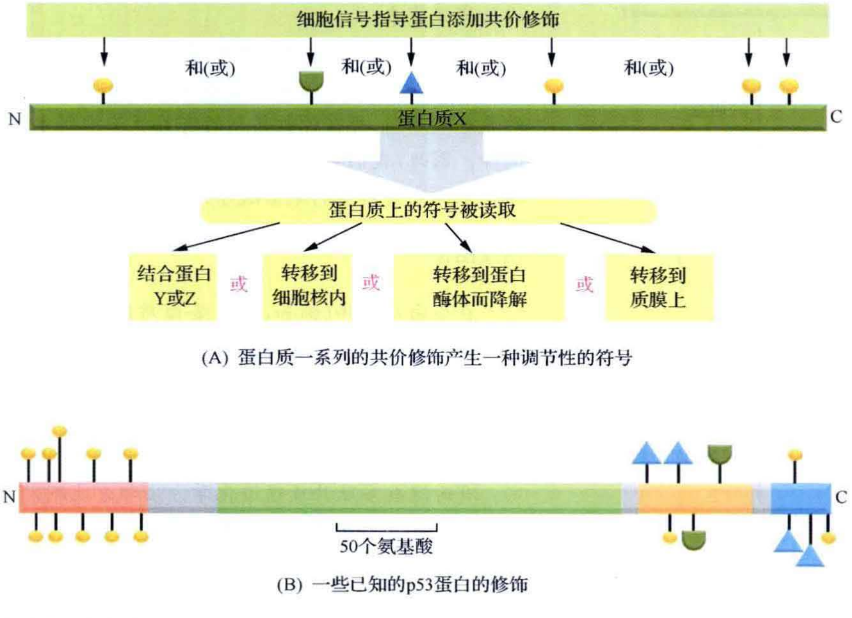


图 4-44 蛋白多步骤的修饰产生一种能够调控蛋白行为的特殊密码。(A) 来自细胞内外的不同信号指导蛋白修饰的特定组合(第 16 章)，它被细胞用来支配蛋白的活性和(或)定位。例如，磷酸化(黄色符号)通常影响蛋白的定位和活性，而泛素化(绿色符号)的存在导致蛋白降解(第 7 章)。(B) 图示显示了调控 p53 蛋白活性和降解的几种共价修饰方式，p53 是细胞对损伤产生应答的重要的调控蛋白(第 18 章)。请注意：不是所有的修饰——如磷酸化、泛素化和乙酰化(蓝色符号)——都会同时出现。蛋白质结构示意图上的颜色代表 p53 蛋白特定的结构域。

在任何一个时刻，一个蛋白所含有的共价修饰的组合组成一套重要的**调节蛋白密码**。这些修饰基团的添加与去除能够调控一个蛋白的行为，改变蛋白的活性和稳定性，改变它的结合伴侣，或者改变它在细胞内的定位(图 4-44)。这套调节密码能够使细胞最优化利用它的蛋白，使细胞针对外界条件和环境的改变做出迅速反应。

我们如何得知：探究蛋白质的结构

在研读本章过程中，毫无疑问，我们已经能够断言结构决定功能。对蛋白质来说，分子的三维结构决定了这个蛋白的功能。因此，更多地了解蛋白质如何工作，就有助于了解它看上去像什么。

问题在于即使使用强大的电子显微镜，绝大多数的蛋白质还是因太小而看不清精细的结构。沿着折叠形成蛋白分子的氨基酸肽链，你需要能够“看到”它们单个的原子。科学家们用两种主要的方法来勘测一个蛋白上原子的位置。第一种方法是使用X射线。像可见光那样，X射线也是一种电磁辐射的形式，但它们的波长很小，与可见光的波长400～700 nm相比，X射线的波长仅有0.1 nm。这么微小的波长接近于一个原子的直径，它使科学家们能够在原子水平探究非常小的物体的微细结构。

而另一种方法被称为核磁共振光谱学，它利用了许多原子的原子核存在磁性的原理。当位于强磁场时，这些原子核就像是条形磁铁，并使自身沿着磁场排列。如果之后原子被一束无线电波所激发，它们的原子核将绕着磁轴摇摆。当原子核回到原来的位置时，它们将发射出一种信号，能够显示它们在蛋白中的相对位置。

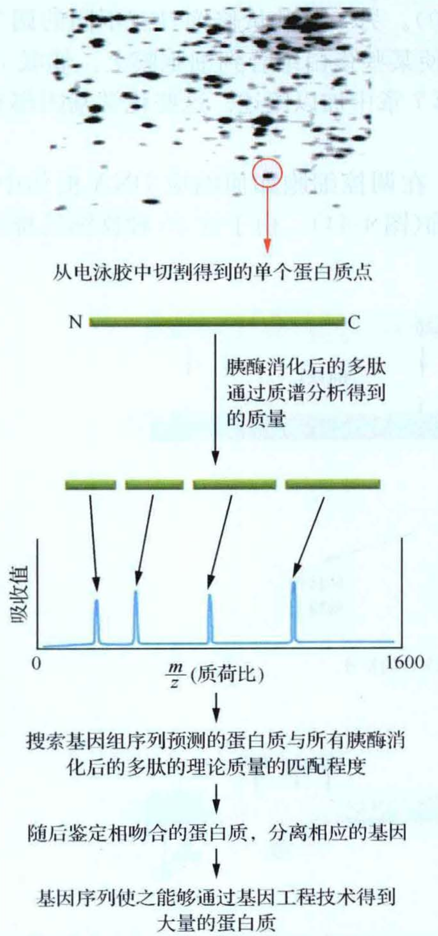


图4-45　利用质谱通过多肽的精确质量来鉴定蛋白质。如图所示，这一系列步骤可大量生产蛋白，以确定蛋白的三维结构。在这个例子中，通过双向聚丙烯酰胺凝胶电泳得到感兴趣的蛋白质(图版4-6)，然后将之用胰酶消化。将多肽片段加到质谱仪上，确定它们的质量。搜索序列数据库，寻找那些与胰酶消化后的质荷比相吻合的蛋白。蛋白混合物也可以用这种办法来分析。(图片蒙Patrick O'Farrell惠许)

通过这些技术，研究人员艰难地拼凑出几千个蛋白的结构。在计算机图像程序的帮助下，人们能够涉足蛋白的内部，探寻ATP喜欢紧贴的角落，或是检查在一段DNA周围的蛋白用于抓牢它的结合蛋白或包裹蛋白的环和螺旋。如果碰巧是病毒或癌细胞的蛋白，那么了解它的结构能为预防感染或消除癌症的药物设计提供线索。

不过在接受X射线辐射或将蛋白置于磁场之前，需要纯化极其大量的蛋白质(图版4-4，图版4-5和图版4-6)。你必须知道它的氨基酸序列，那么你收集到的有关原子排列方式的数据才能被阐释。因此，我们将开始讨论如何解析蛋白质的结构，并简要介绍用来测定蛋白质的氨基酸序列的方法。

指纹图谱

在蛋白质测序(例如，测出蛋白质的氨基酸序列)之前，通常用一个选择性的蛋白酶将蛋白切成更小的部分。例如，胰蛋白酶在赖氨酸或精氨酸的羧基一侧剪切多肽链。因此，如果一个蛋白质含有9个赖氨酸和7个精氨酸，经胰蛋白酶消化后应该切成17个多肽片段。每个多肽片段的氨基酸成分能够通过化学方法测定。有时这些多肽片段通过化学方法部分地测定，而另一部分序列随后用数据库搜索来找出蛋白质的全部序列。

特别当大量的蛋白质需要同时分离和鉴定时，另一种测定氨基酸序列的快速方法是使用一种被称为质谱的方法。这项技术测定每个多肽片段的精确质量，这些信息能够使你从生物体产生的所有蛋白质的清单中找出你要的蛋白质。整个过程如下：将胰酶消化后的多肽放在一个金属盘上干燥。样品然后用激光喷射，以加热多肽，使之带电(电离)并以气体的形式离开金属盘。在强大的电场加速下，多肽离子随后飞向探测器，而到达探测器的时间依赖于它们的质量和电荷(多肽越大，移动得越慢；所带电荷越多，移动得越快)。胰酶剪切产生蛋白质片段的精确质量的集合可以看作是一套从序列数据库中鉴定蛋白和相对应基因的“指纹图谱”(图4-45)。

X 射线

一旦你获得了一个蛋白质的氨基酸序列，并且产生了足够用于研究的蛋白量，那么真正的挑战就开始了。要通过 X 射线晶体学方法测定一个蛋白质的结构，你必须先耐心地等待蛋白质形成晶体：大量高度有序排列的纯化蛋白，其中的每个分子都有着与周围分子一样的构象。高质量蛋白晶体的生长仍然是一种艺术，在很大程度上是不断探索的过程——如选择合适的溶液条件等。寻找合适的结晶条件可能要花费数年的时间，而有些蛋白质总是结晶不出来。

如果你幸运地获得了好的蛋白晶体，就可以开始 X 射线分析了。当一束窄窄的 X 射线射向一个蛋白质晶体时，X 射线通过蛋白分子里的原子时产生散射。这些散射的射线相互增强或消减，产生一个能够被电子接收器所收集的复杂的衍射图案。在衍射图案中，每个点的位置和强度包含着蛋白质晶体中原子排列的信息(图 4-46)。

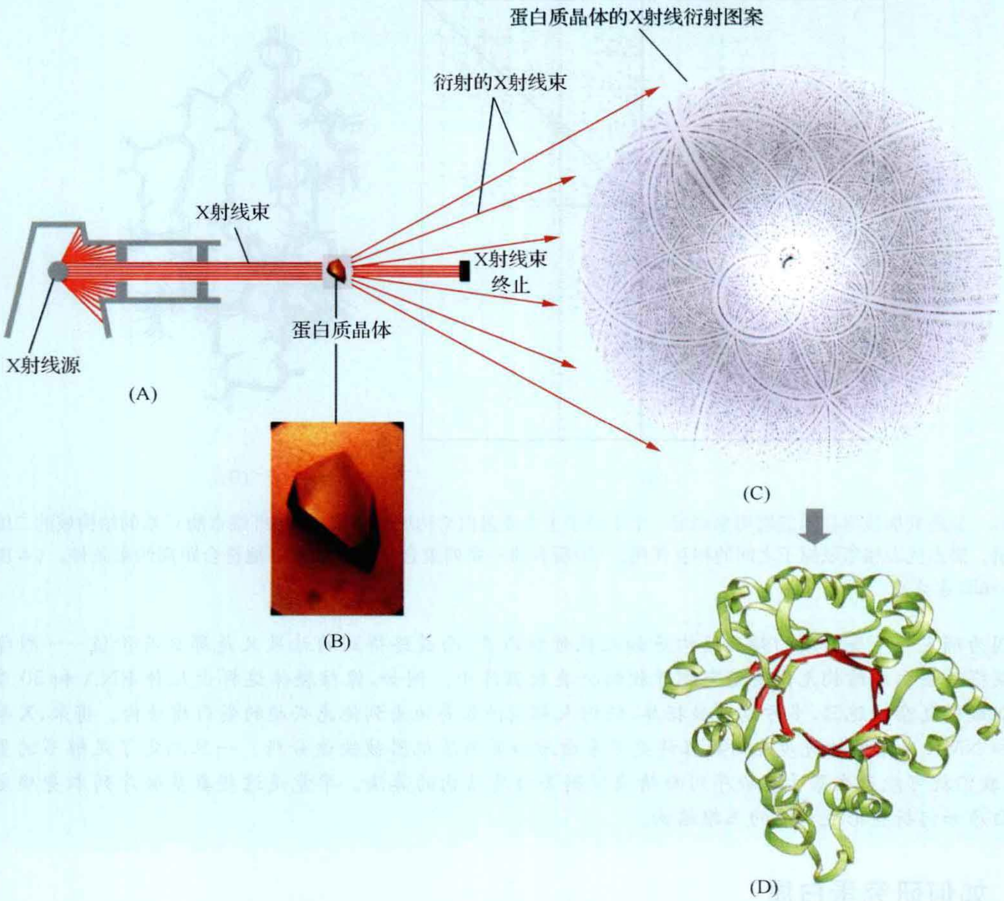


图 4-46　通过 X 射线晶体学的方法测定一个蛋白的结构。二磷酸核酮糖羧化酶在光合作用固定 CO_2 过程中发挥了关键的作用。(A) X 射线衍射设备。(B) 晶体照片。(C) 衍射图案。(D) 通过衍射图案确定的蛋白三维结构(α 螺旋用绿色标示；β 折叠用红色标示)。(图 B 蒙 C. Branden 惠许；图 C 蒙 J. Hajdu 和 I. Anderson 惠许；图 D 参见 B. Furugren 提供的原始照片)

因为这些衍射图案是如此之复杂(即使一个很小的蛋白质也能产生 25 000 个离散的点)，以至于需要使用计算机通过复杂的数学计算才能将其转化为原子相对位置的图形。通过结合来自蛋白氨基酸序列图形的信息，最终你能生成一张蛋白结构的分子模型。当蛋白质结合配体并增强其活性时，为了确定它是否经历了构象的变化，你或许会紧接着试图在配体存在的情况下结晶蛋白。只要晶体的质量足够好，通过比较激活性(或抑制性)配体存在(或缺失)的条件下获得的蛋白质结构，即使很小的原子位移也能被检测到。

磁体

X 射线晶体学的麻烦之处在于你需要晶体。并不是所有的蛋白质都适合形成如此有序的集合。有些蛋白质可能含有松散的部分，因其摆动过多而不能在晶体阵列中整齐地堆叠。其他蛋白质可能因缺少其通常存在的细胞膜而不能被结晶。

解析蛋白质结构的另一种方法并不需要蛋白晶体。如果某个蛋白质很小，比如说50 000 Da或更小，你能通过 NMR 光谱学的方法来确定它的结构。在这些技术中，在强磁场中放置纯化蛋白的浓缩溶液，然后用不同频率的无线电波进行脉冲。尤为特别的是，氢原子的原子核所产生的 NMR 信号能被用来测定蛋白不同部分的原子之间的距离。这份信息随后被用来建立一套关于原子在空间上如何排列的模型。随后，结合已知的氨基酸序列，一份 NMR 频谱能够使你计算蛋白质的三维空间结构(图 4-47)。如果一个蛋白质的分子质量大于 50 000 Da，你就要尝试将其分解成几个功能性的结构域组分，每个结构域分别用 NMR 来分析。

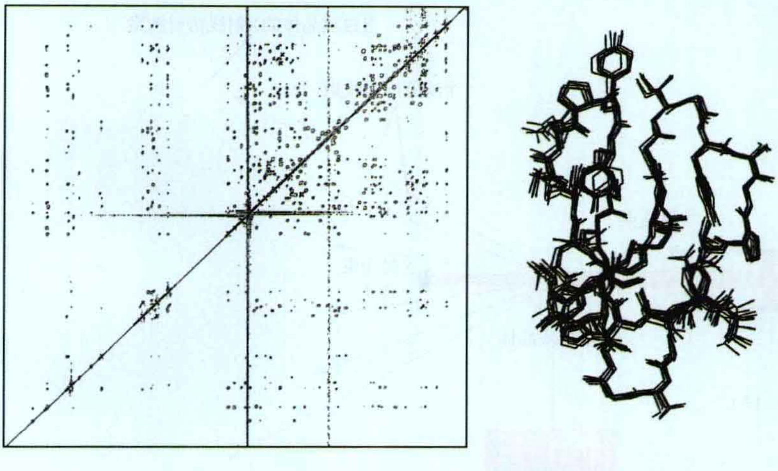


图 4-47　核磁共振波谱技术能够用来确定一个小分子蛋白或蛋白结构域的结构。(A)纤维素酶 C 端的结构域的二维核磁共振谱。黑点代表相邻氢原子之间的相互作用。(B)所有的一系列重合结构都能很好地符合距离约束条件。(本图承蒙 P. Kraulis 惠许)

因为确定一个蛋白质的精确结构是如此耗时和昂贵，而最终得到的结果又是那么有价值——科学家定期将获得的蛋白质结构无偿地递交到开放的公共数据库中。例如，像核糖体这样由几种 RNA 和 50 多种蛋白质组成的复杂细胞器，多亏这些数据库，任何人都能很容易地看到他感兴趣的蛋白质结构。将来，X 射线晶体学和 NMR 光谱学的进步应该能容许更多蛋白质和蛋白质机器被快速分析。一旦测定了足够多的蛋白质结构，我们就可能产生基于基酸序列而精确预测蛋白质结构的算法。毕竟是这些氨基酸序列本身确定了每个蛋白质如何折叠形成相应的三维结构。

4.4　如何研究蛋白质

了解一个蛋白的特定功能需要详尽的结构和生化分析，而这些都需要大量纯的蛋白质。不过，要从细胞内上千种蛋白中分离纯化一种类型的蛋白，是一项艰难的工作。许多年来，人们直接从源头即从含量丰富的组织中纯化蛋白。那种方法非常不方便，例如，需要一清早就到屠宰场去。更重要的是，当准备纯化特定分子时，完整的组织和器官的复杂性是主要的限制因素，因为这通常需要一系列的层析步骤。这些流程不但需要花费数周的时间，而且只能产生几毫克的纯化蛋白。

如今，人们更为频繁地从实验室培养的细胞中分离蛋白。这些细胞通常已被“改造”，能用基因工程技术产生大量的特定蛋白(基因工程技术详见第 10 章)。通常只要几天时间就能从这些细胞获得大量的纯化蛋白。

在这一章节以及图版 4-4～图版 4-6 中，我们将概述细胞如何在培养基中生长，蛋白如何从这些细胞和其他细胞中纯化。在“我们如何得知”章节中，我们将描述如何分析蛋白质以确定它们的氨基酸序列和三维结构。最后，我们还将讨论如何大规模地探究蛋白质的结构和功能，以期对蛋白质如何协调生命活动有一个更为深入的认识。

4.4.1 细胞能够在培养皿上生长

只要条件适宜，绝大多数的植物和动物细胞都能够在组织培养基上生长、增殖甚至表现出特定的性质。利用培养的细胞所做的实验有时也被称为体外实验（*in vitro*，字面意思是“在玻璃制品中”），而这与利用整个生物体所做的实验形成对比，后者又被称为体内实验（*in vivo*，字面意思是“在活的生物体中”）。这些术语也会被混淆，因为生化学家将它们用于不同的含义。在生化实验室中，体外特指在试管中不存在细胞时进行的反应，而体内特指发生在活细胞内的任何反应，即使是在培养基中生长的细胞。

尽管对所有类型的细胞来说这并不完全准确，但在培养基中生长的大多数细胞还是表现出与它们来源相对应的分化特性：成纤维细胞是产生结缔组织的前体细胞，它仍能分泌胶原；从胚胎的骨骼肌中获得的细胞能够在培养基上融合形成能自发收缩的肌纤维；神经细胞延伸出的轴突能够产生电兴奋，并且与其他神经细胞形成突触；而上皮细胞形成大面积的薄层，并带有上皮组织的许多特性（图 4-48）。由于这些现象发生在培养基这个受控的环境中，它们能以在组织中

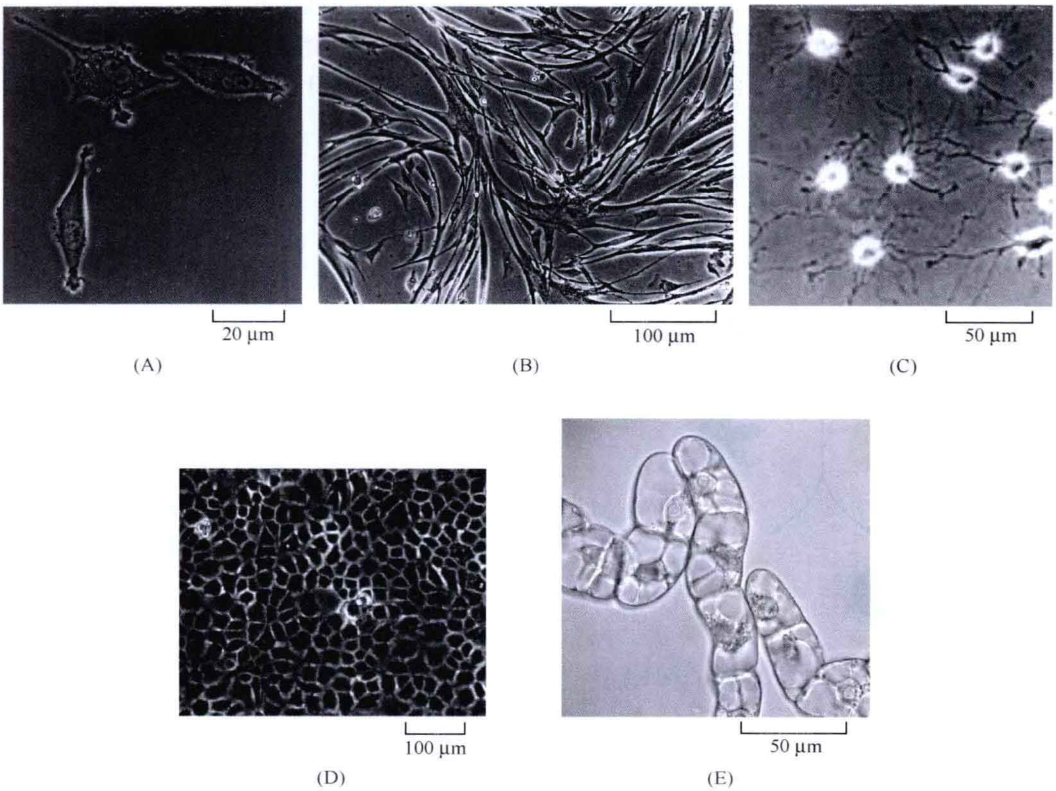


图 4-48 培养中的细胞经常表现出它们原有的特性。(A) 培养中的成纤维细胞的相差显微镜照片。(B) 培养中的肌母细胞的照片。肌母细胞是产生肌肉的前体细胞，图中显示细胞融合产生多核的肌细胞。(C) 培养中的前体细胞能产生少突细胞，这种胶质细胞在大脑中起到支撑和营养神经元的作用。(D) 培养中的上皮细胞能产生一层细胞薄片。(E) 源自永生化细胞系的烟草细胞在液体培养基中生长。（图 A 蒙 Daniel Zicha 惠许；图 B 蒙 Rosalind Zalin 惠许；图 C 引自 Tang et al.，*J Cell Biol*. 148:971-984，2000，并获 The Rockefeller University Press 版权许可；图 D 引自 K. B. Chua et al.，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 11424-11429，2007，并获 The National Academy of Sciences 版权许可；图 E 蒙 Gethin Roberts 惠许）

不可能的方式方便地开展研究。例如，培养的细胞能够用激素或生长因子处理，人们也就能容易地探索这些分子所产生的效应，包括细胞的形状、行为，或应激后所产生的蛋白质。

正如下面我们将要介绍的那样，培养的细胞也能为生物学家纯化和研究某个特定蛋白或蛋白机器提供稳定的原料来源。

4.4.2 纯化技术使人们从细胞匀浆中获得均质的蛋白质制品

不管是从成纤维细胞的培养物、一叶肝脏还是从一大瓶生产目的蛋白的细胞开始，任何纯化方法的第一步都是破碎细胞，释放出其中的内容物，最终产生的浆状物称为*细胞匀浆*。这种物理性破碎之后是初步的分级分离过程，以分离那组感兴趣的分子——例如，细胞内所有的可溶性蛋白(图版 4-4)。

在收集蛋白之后，要做的事情就是分离目的蛋白。纯化蛋白质的标准方法是采用一系列的**层析**步骤，将复杂的混合物分离成不同的单一组分或部分。这样的每一步之后，我们将采用某一些分析方法(例如，蛋白活性的检测)来确定哪一部分含有我们感兴趣的蛋白质。然后，这些组分再进行进一步的层析，直到获得目的蛋白的纯化形式。蛋白层析的最常用方式是根据蛋白的大小、电荷或它们结合特定化学基团的能力来分离多肽(图版 4-5)。如果可以使用抗体来够识别特定的蛋白质，那么抗体就会被用来从混合物中提取某个蛋白(图版 4-3)。

我们还可以利用另一种方法来分离与所研究的蛋白质有物理性相互作用的蛋白质。在这种情况下，将纯化的目的蛋白偶联到层析柱的基质上；能结合这个蛋白质的其他蛋白将被集中到层析柱中，随后通过改变漂洗液的组成而将其洗脱下来(图 4-49)。

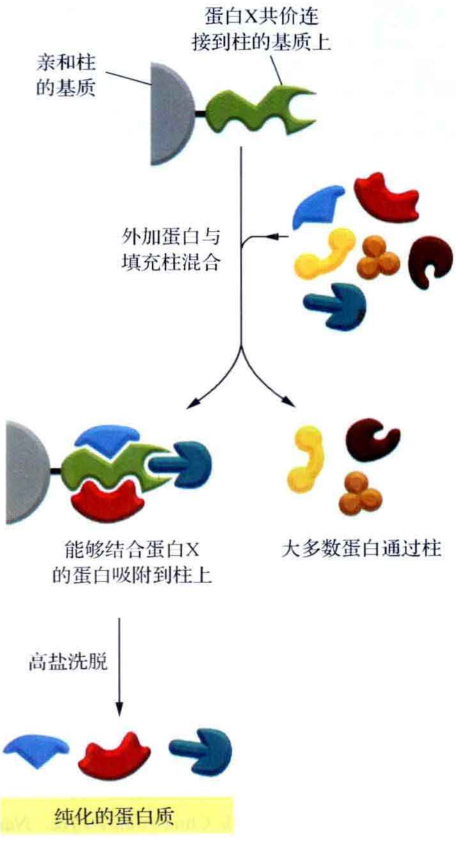


图 4-49 利用亲和层析法分离某个目的蛋白的结合蛋白。将目的纯化蛋白 X 共价连接到层析柱的基质上。然后，将含有混合蛋白的提取物加入到柱中。在细胞内能够结合蛋白 X 的那些蛋白就能结合到柱子上。不能结合的蛋白通过柱子，而那些紧密结合蛋白 X 的蛋白可通过改变漂洗液的 pH 或离子浓度而被洗脱下来。

蛋白质还能通过**电泳**分离。在这项技术中，将蛋白质混合物加到聚合凝胶上并将其置于电场中；随后，多肽将依据其大小和净电荷以不同的速度在胶中迁移(图版 4-6)。如果有样品中的蛋白质数量过多，或者蛋白质的迁移率非常相近等问题，则可以用双向凝胶电泳的方法来解决(图版 4-6)。这些电泳方法产生了许多可以通过染色显现的条带和斑点，每一个条带或斑点都含有一个不同的蛋白质。经过 50 多年来的发展，电泳和层析技术已经成为研究蛋白质外观和行为的有力工具(表 4-2)。迄今，这些技术仍然广泛应用在实验室中。

表 4-2 研究蛋白质过程中的历史性事件

1838 年	**"蛋白质"**(源自希腊语 proteios，"最原初的")这个名称最早由 Berzelius 提出，指的是在所有动物和植物细胞中存在的富含氮元素的一类复杂的有机物质
1819～1904 年	在蛋白质中发现了 20 种**氨基酸**的绝大部分
1864 年	Hoppe-Seyler 得到**血红蛋白**的结晶并为其命名
1894 年	Fischer 提出酶与底物相互作用的**锁和钥匙**模型(锁匙学说)
1897 年	Buchner 和 Buchner 发现酵母的无细胞抽提物可将蔗糖发酵成乙醇和二氧化碳，从此奠定了**酶学**的基础
1926 年	Sumner 获得纯的脲酶结晶，证明蛋白质具有酶的**催化活性**；Svedberg 制造了第一台**分析超速离心机**，并将其用于估计血红蛋白的准确分子量
1933 年	Tiselius 将**电泳**技术用于分离溶液中的蛋白质
1934 年	Bernal 和 Crowfoot 从胃蛋白酶的结晶中获得了第一张蛋白质 **X 射线衍射**图
1942 年	Martin 和 Synge 发展了**色谱分析(层析)**技术，目前这项技术已广泛用于分离蛋白质
1951 年	Pauling 和 Corey 提出了氨基酸长链的螺旋构象——**α 螺旋**结构和 **β 折叠**结构。之后，在许多蛋白质中都发现存在这两种结构
1955 年	Sanger 完成**胰岛素的氨基酸序列**分析，这是第一个测定氨基酸序列的蛋白质
1956 年	Ingram 建立了第一个**蛋白质指纹图谱**，说明单个氨基酸的突变引起镰状细胞血红蛋白和正常血红蛋白之间的差别(视频 4.12)
1960 年	Kendrew 描述了第一个分辨率达 0.2 nm 的蛋白质**三维结构**(巨头鲸的肌红蛋白)，而 Perutz 则提出较低分辨率的血红蛋白的结构
1963 年	Monod、Jacob 和 Changeux 认识到许多酶是通过构象的**变构**而受调节的。

我们一旦获得某个蛋白质的纯化形式，就能用生化分析来研究它的活性，并能用技术揭示它的氨基酸序列和精确的三维结构(详见"我们如何得知"一节)。

4.4.3 通过基因工程技术能够大量生产几乎任何一种蛋白质

目前，基因工程技术的优势在于能够大量生产几乎任何一种目的蛋白。除了让生化学家在纯化特定蛋白变得更为简便之外，大量生产蛋白质的能力也促使了整个生物技术产业的诞生(图 4-50)。目前，公司利用细菌、酵母、或培养的哺乳动物细胞来大量制备医疗上使用的所有类型的蛋白质，例如，胰岛素、人生长激素，甚至包括在体外受精时促进妇女排卵的助孕药物。之前，制备这些蛋白质需要收集和加工大量的组织和其他生物产品。以受孕药物为例，需要老修女绝经后的尿液。

利用同一种基因工程技术，科学家们还能够设计蛋白质来执行新的功能：代谢有毒的废物、合成救生药物或者在破坏绝大多数生物催化剂的条件下工作。我们将在第 10 章里详细地讨论这些方法。

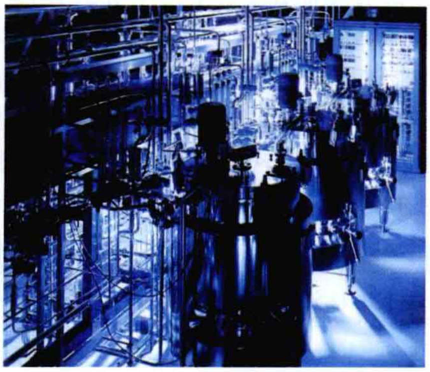


图 4-50 生物技术公司研制大量有用的蛋白。图中的照片是用来培养细胞产生大量蛋白的发酵罐。(本图蒙 Bioengineering A. G., Switzerland 惠许)

4.4.4 蛋白质结构和功能的自动化研究加快了发现的步伐

在过去的 150 年里，生物化学家已经在探究蛋白质的结构和功能方面取得了巨大的进展(表 4-2)。这些进展是数十年艰苦卓绝地研究蛋白分离的成果，无数科学家不知疲倦地研究一个接一个的蛋白质或蛋白质家族，有人为此贡献了一生。不过，许多更为深远的进展来自于**蛋白质组学**，通过高敏感度的自动化技术大规模研究细胞内成百上千的蛋白质的活性和结构。倘若科学家们能完善这些方法，有朝一日他们能够监控细胞内的所有蛋白质：评估蛋白质是否打开(或关闭)，并观测哪些蛋白与之相结合，而所有这些在一次实验中就能完成。

蛋白质结构的大规模分析已经在进行中。已经小型化和自动化的技术使研究人员能够快速地克隆基因、生产蛋白、长出晶体，并且一次性收集数百个蛋白质的 X 射线衍射数据。通过 **X 射线晶体学**和**核磁共振(NMR)光谱学**(详见“我们如何得知”一节)，目前我们已经获得超过 20 000个蛋白的三维结构。这些结构被存档在大型的公共数据库中，供人使用(见视频 4.13)。通过分析这些蛋白的构象，生物学家已经得出结论，即绝大部分的蛋白结构域折叠后形成有限的类型——或许不超过 2000 种。迄今为止，科学家们已经确定了大约 800 种折叠蛋白的结构。通过研究这些结构类型是如何形成的，科学家们希望能开发出计算的方法，从而只要获得任何的氨基酸序列就能预测蛋白的结构和功能。

即使有了这些信息，想要正确解释这些蛋白(最小微生物大约有 400 种蛋白，而人的细胞含有 10 000 种蛋白)如何相互协调并形成一个活细胞，这仍然是个巨大的挑战。要清楚地阐释在趋于无序的宇宙中蛋白质如何协调并产生和维持有序，这就需要新技术的不断发展和人类的大量创新。不过，我们越接近问题的答案，我们对生命本质的理解也就越深刻。

图版4-1 蛋白质功能的几个例子

酶
功能：催化共价键的断裂或形成。

例：活细胞内含有数千种不同的酶，每种酶催化(加速)某一类特定的反应。例如，色氨酸合成酶——用于色氨酸的合成；胃蛋白酶——在胃里降解食物中的蛋白质；二磷酸核酮糖羧化酶——在植物中将二氧化碳转化为糖类；DNA聚合酶——DNA复制；蛋白激酶——将一个磷酸基团添加到蛋白质分子上。

结构蛋白
功能：给细胞和组织提供机械支撑。

例：在细胞外，胶原蛋白和弹性蛋白是细胞外基质的常见组分，并形成肌腱和韧带中的纤维。在细胞内，微管蛋白形成长而硬的微管，而肌动蛋白形成肌动蛋白丝，在细胞质膜下起支撑作用；α-角蛋白形成纤维，用以加固表皮细胞，它是头发和角中的主要蛋白质。

转运蛋白
功能：运输小分子或离子。

例：在血液中，血清白蛋白运输脂质，血红蛋白运输氧气，载铁蛋白运载铁。位于细胞膜上的许多蛋白跨膜运输离子或小分子。例如，细菌视紫红质(bacteriorhodopsin)是一个光激活的质子泵，可将H^+运到细胞外；葡萄糖载体将葡萄糖往返运输于肝细胞内外；肌细胞中的Ca^{2+}泵将引发肌肉收缩时需要的Ca^{2+}泵入储存Ca^{2+}的内质网中。

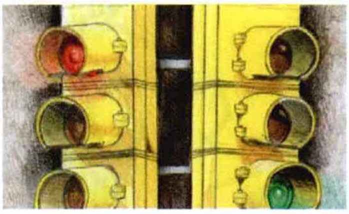
马达蛋白
功能：在细胞和组织中产生运动。

例：在骨骼肌细胞中，肌球蛋白为人的运动提供原动力；驱动蛋白与微管相互作用，引起细胞器在细胞内的运动；动力蛋白能够使真核生物的纤毛和鞭毛发生拍打。

储存蛋白
功能：储存小分子或离子。

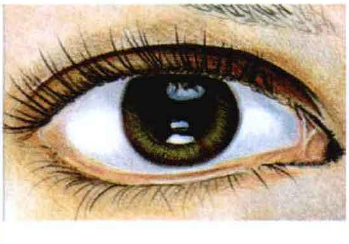
例：铁通过与铁蛋白的结合而被储存在肝脏中；鸟卵中的卵清蛋白为鸟类的胚胎发育提供氨基酸的来源；而乳汁中的酪蛋白是哺乳动物的幼儿的氨基酸来源。

信号蛋白
功能：在细胞间传递信号。



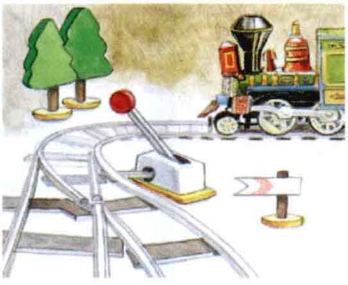
例：在动物中，许多协调生理功能的激素和生长因子都是蛋白质；例如，胰岛素是控制血液中葡萄糖水平的一个小型蛋白；在发育阶段的胚胎中，神经生长导向因子(netrin)吸引生长的神经细胞朝向一个特定的方向；神经生长因子(NGF)刺激某些类型的神经细胞长出神经轴突；表皮生长因子(EGF)刺激表皮细胞的生长和分裂。

受体蛋白
功能：被细胞用于检测信号并将其传递给细胞的反应装置。



例：视网膜上的视紫质可感受光信号；肌细胞膜上的乙酰胆碱受体接受神经末梢释放的化学信号；胰岛素受体通过结合葡萄糖而使肝细胞对胰岛素做出反应；心肌上的肾上腺素受体可通过结合肾上腺素而提高心跳速率。

基因调控蛋白
功能：通过结合DNA来调节基因的开或关。

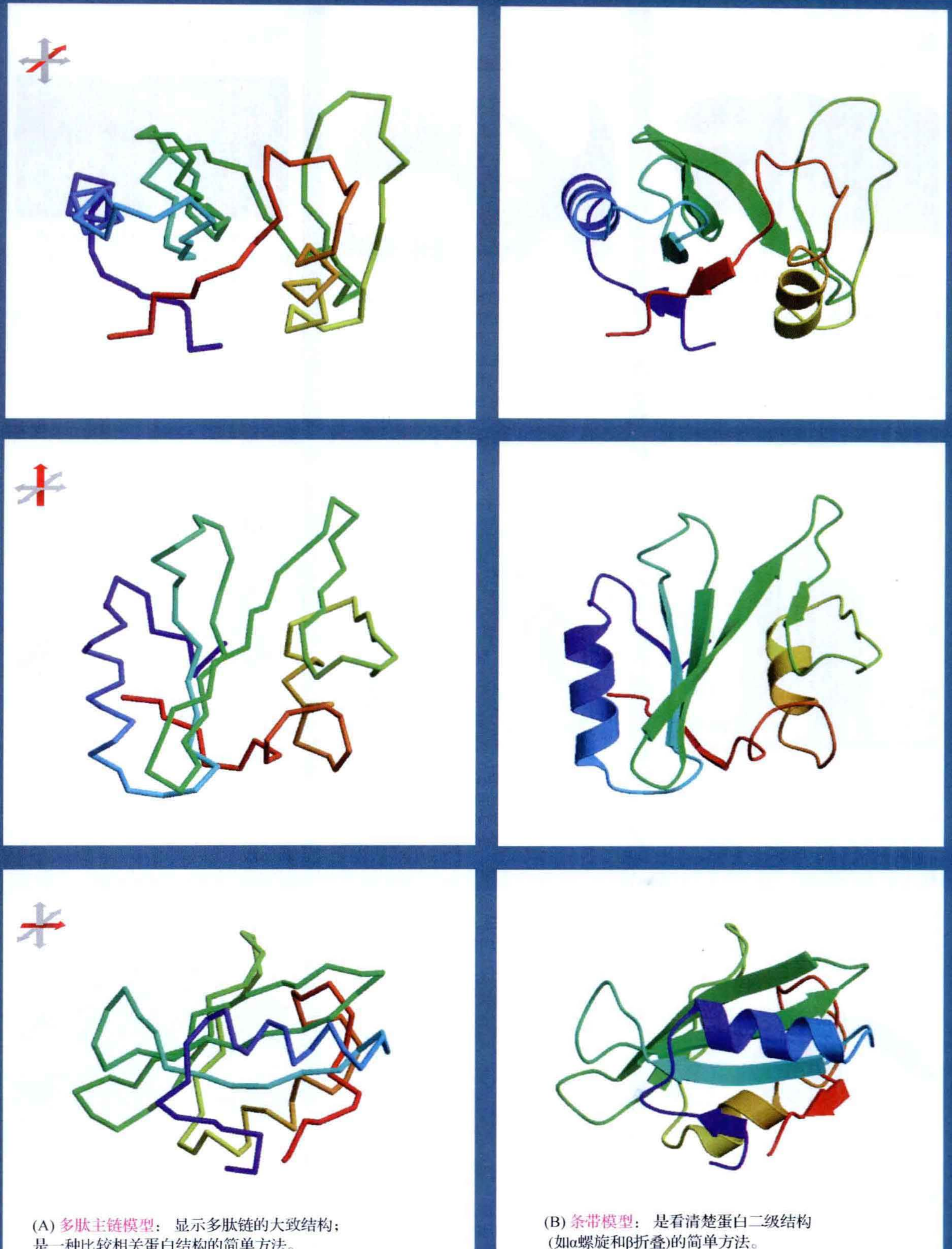


例：细菌中的乳糖抑制子可沉默编码乳糖降解酶的基因的表达；在包括人在内的多细胞生物体中，许多不同的同源异型结构域蛋白扮演着调控发育的遗传开关的角色。

特殊功能蛋白
功能：十分多样。

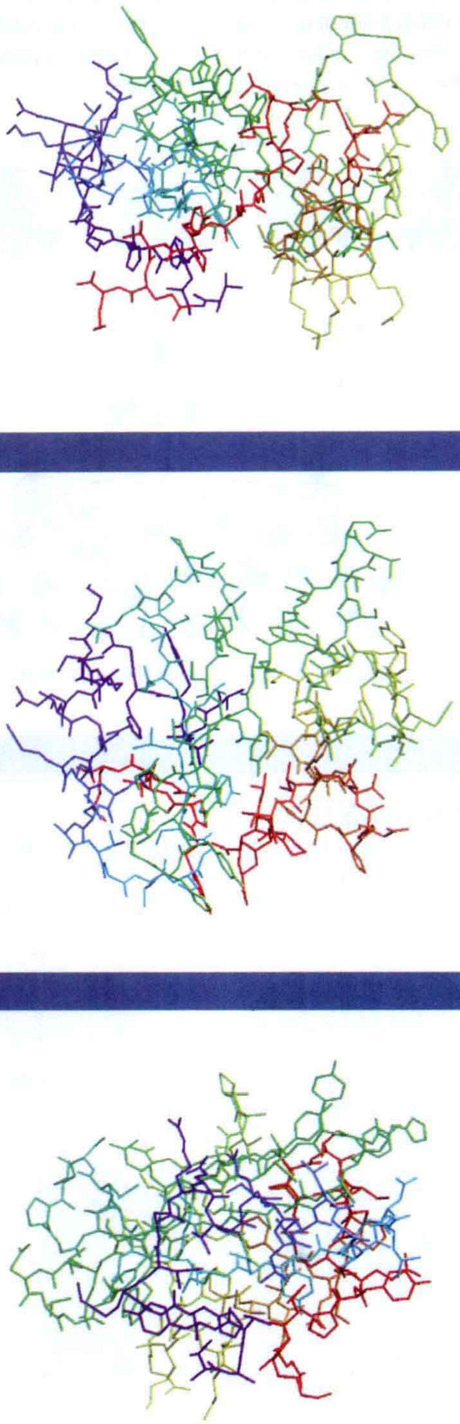
例：生物体产生许多高度特化的蛋白质。这些分子体现了蛋白质所具有的广泛功能。生长在南极和北极的鱼类体内有一类抗冻蛋白，它可保护鱼的血液免受冻结；来自水母的绿色荧光蛋白会发出一种绿色的光；在一种非洲植物中发现的莫内林(monellin)蛋白有极甜的味道；贻贝和其他海洋生物分泌胶蛋白，这使得它们浸在海水中时也能牢牢地吸附在岩石上。

图版4-2 描述小型SH2蛋白结构域的四种不同方式

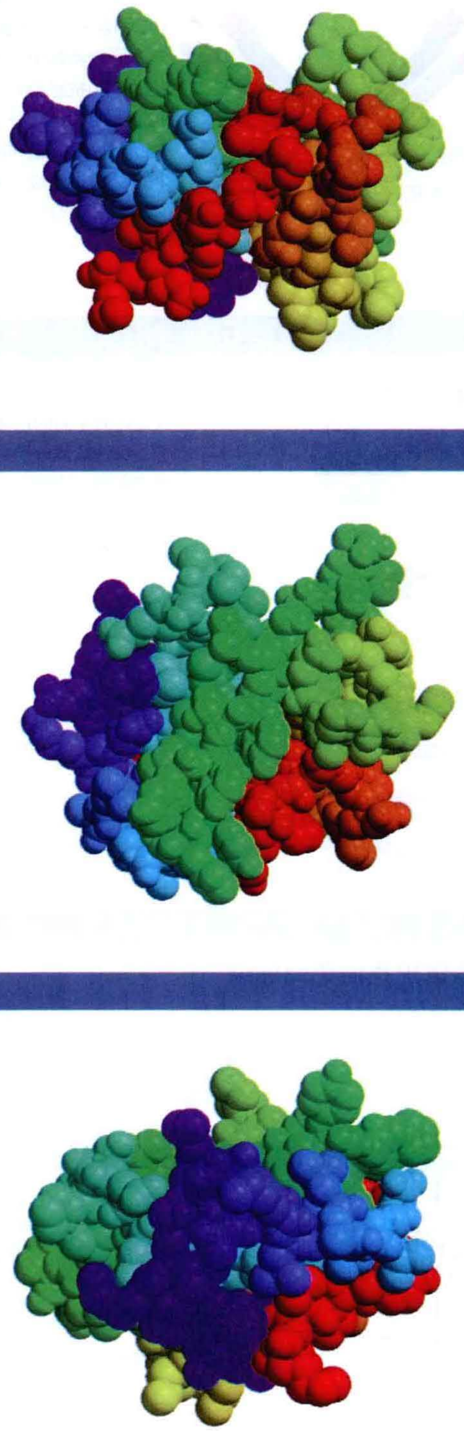


(A) 多肽主链模型：显示多肽链的大致结构；是一种比较相关蛋白结构的简单方法。

(B) 条带模型：是看清楚蛋白二级结构(如α螺旋和β折叠)的简单方法。



(C) 金属丝模型：强调侧链和它们相邻近的分子；特别对酶而言，能够有效预测哪些氨基酸参与蛋白质的活性。

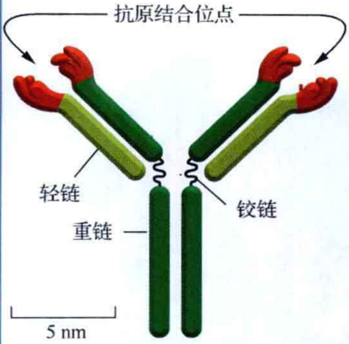


(D) 空间填充模型：提供蛋白的轮廓图；对蛋白的形状有初步认识，并能显示哪些氨基酸侧链暴露在蛋白质表面。显示一个蛋白质如何依赖于一个像水那样的小分子或依赖于另外一个蛋白质。

蒙 David Lawson 惠许

图版4-3 抗体的制备和使用

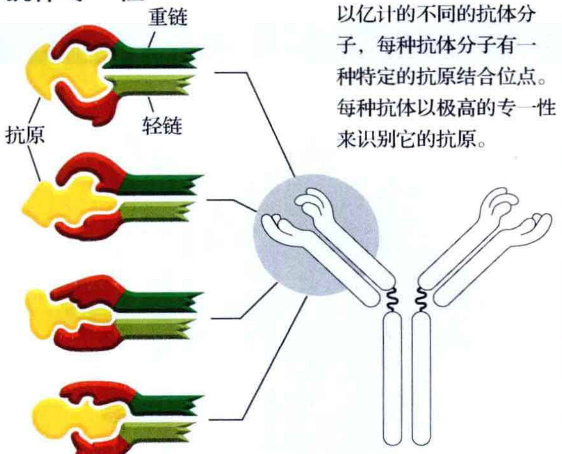
抗体分子



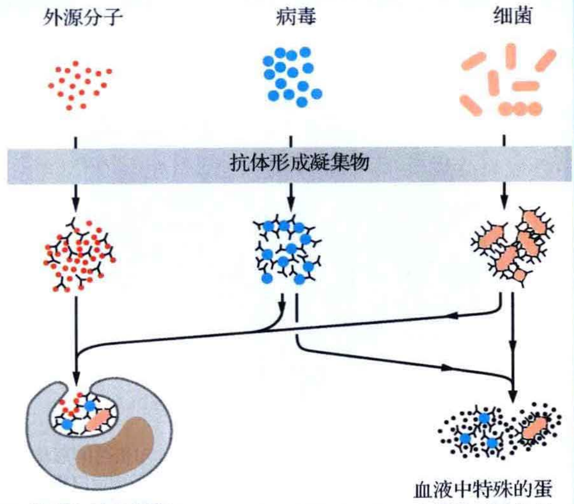
抗体是一类能与其靶标(抗原)紧密结合的蛋白质。脊椎动物中产生的抗体作为抗感染的防御机制。每个抗体分子由两条相同的轻链和两条相同的重链组成，故而两个抗原结合位点是相同的。

抗体专一性

一个动物个体能产生数以亿计的不同的抗体分子，每种抗体分子有一种特定的抗原结合位点。每种抗体以极高的专一性来识别它的抗原。



抗体保护我们免受感染

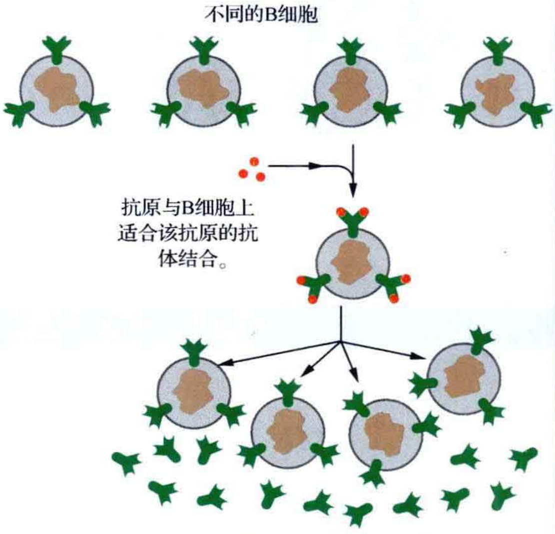


抗原和抗体凝集物被巨噬细胞消化。

血液中特殊的蛋白质杀死抗体包被的细菌或病毒。

B细胞产生抗体

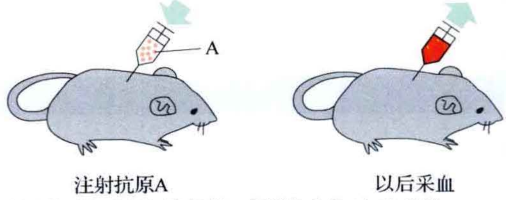
一类被称作B淋巴细胞或B细胞的白细胞产生抗体。每个休眠的B细胞表面携带着一个膜结合的抗体分子，这是识别特定抗原的受体。当抗原与该受体结合时，B细胞受到刺激而分裂并以可溶的形式分泌出大量的同类抗体。



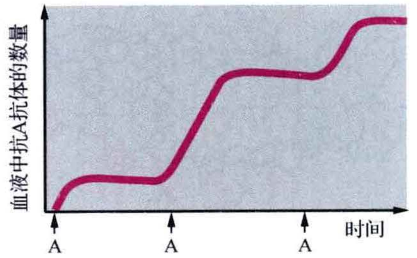
B细胞受到刺激而产生并分泌更多同类的抗体。

在动物中制备抗体

在实验室中，通过将抗原A注射动物(通常使用小鼠、兔、绵羊或山羊)来产生抗体。

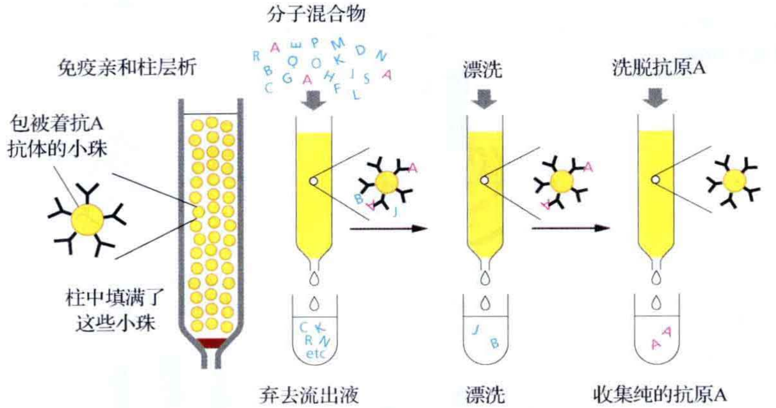


间隔数星期重复注射同类抗体，刺激特定的B细胞分泌大量的抗A抗体进入血液。



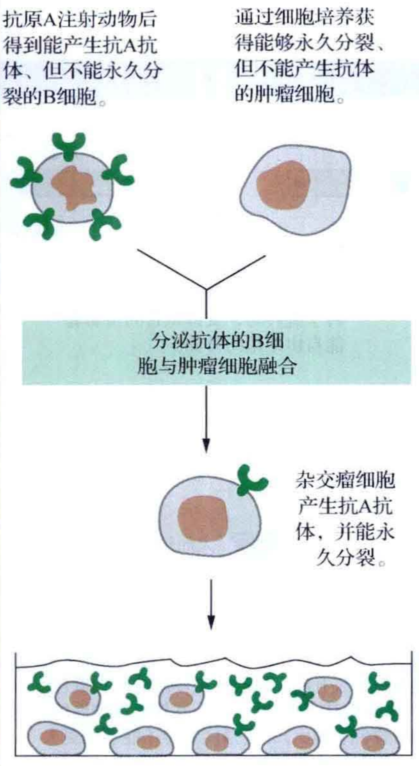
因为许多不同的B细胞受抗原A刺激，所以血液中包含不同种类的抗A抗体，每种抗体结合A的方式不尽相同。

利用抗体纯化分子

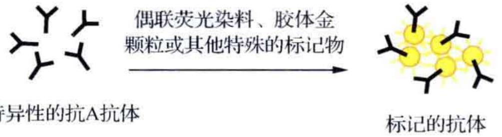


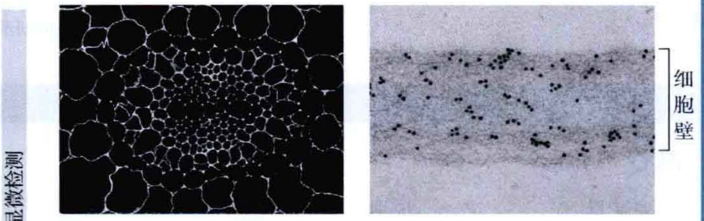
单克隆抗体

通过将B细胞（抗原A注射动物后所得）和肿瘤细胞融合，可获得大量单一类型的抗体。最终的杂交瘤细胞能永久分裂，并能分泌单一类型的抗A抗体。



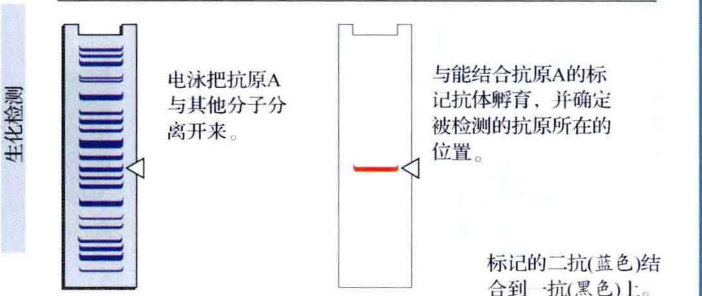
利用抗体作为分子标记



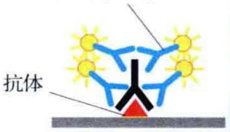


荧光抗体和组织中的抗原A相结合，并在光学显微镜下检测荧光。这里的抗原是植物组织细胞壁内的果胶。

金标记的抗体和组织中的抗原A相结合，并置于电子显微镜下检测。这里的抗原是单个植物细胞的细胞壁中的果胶。



注意：在所有情况下，用多重抗体可显著增加检测的灵敏度。这种"三明治"方法能够检测出很少量的抗原分子。



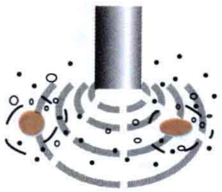
裂解细胞和组织

大多数蛋白质纯化的第一步是以可控的方式裂解组织和细胞。

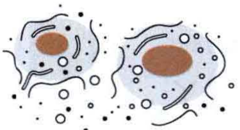
用称为匀质化的温和的机械操作，使细胞膜破裂，细胞内含物得以释放。下面显示的是四种常用的操作。

最终的“浓汤”(称为匀浆或抽提物)含有来自胞质溶胶的大小分子，例如，酶、核糖体、代谢产物和所有的膜被细胞器。

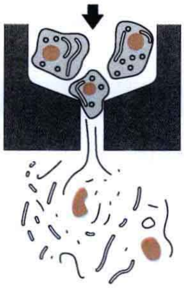
细胞悬浮液或组织



1 用高频超声裂解细胞。

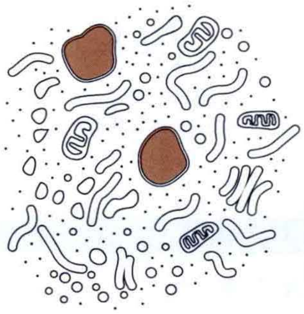


2 以温和的去垢剂在细胞膜上打孔。



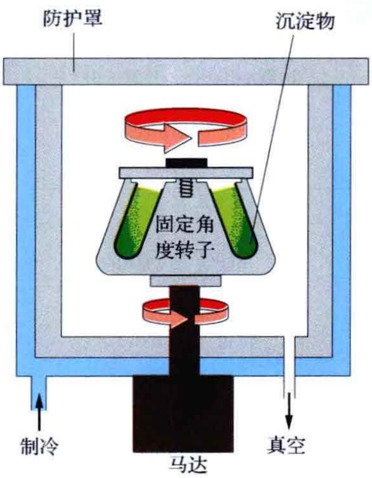
3 用高压强迫细胞通过小孔。

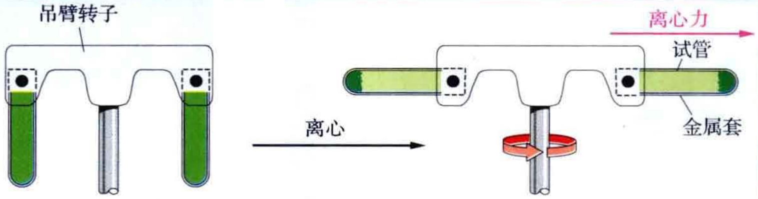
4 在松紧适度的旋转活塞与厚壁玻璃器皿之间研磨细胞。



仔细操作，匀质化作用可使大部分膜被细胞器完好无损。

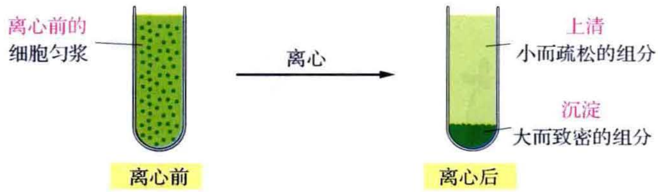
离心





许多细胞组分的分离是通过另一类型的转子即吊臂转子来完成的。

转子旋转时，支撑试管的金属套能自由地甩向外侧。



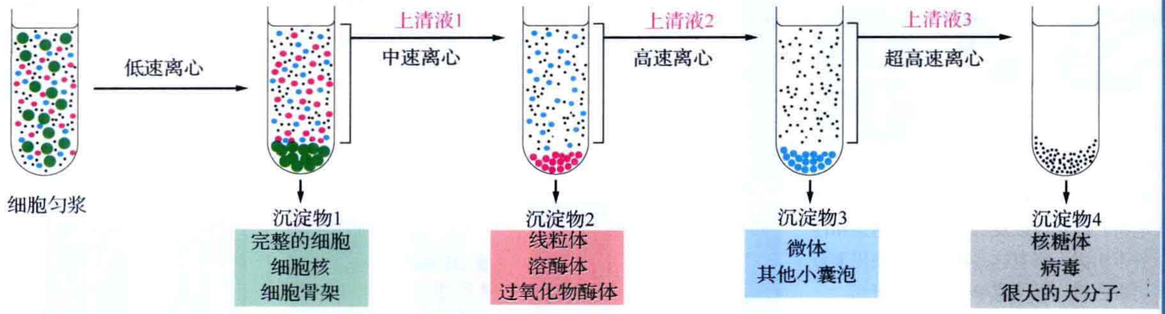
离心是将组织匀浆分离成不同部分的使用最为广泛的方法。将组织匀浆置于试管中，放在离心机或超速离心机上高速旋转。当前超速离心机的转速可达每分钟10万转，产生强大的作用力，这相当于地球重力的60万倍。

在如此高的速度下离心，离心密闭腔内必须制冷和抽真空，以防止摩擦使组织匀浆升温。离心机被厚厚的防护罩包住，因为一个不平衡的转子可能会破碎，并伴有爆炸性的能量释放。与吊臂转子相比，固定角度的转子能容纳更大的体积，但形成的沉淀物较不均匀。

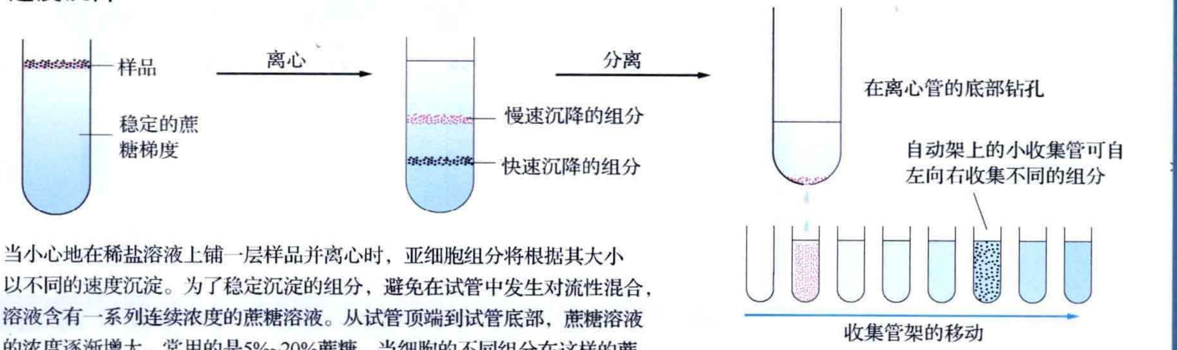
差速离心

用逐步升高的速度重复离心，将使细胞匀浆分离出不同的组分。

按大小和密度的不同，离心可分离出细胞组分。密度越高且越大的组分，所经受的离心力就越大，移动得也就越快。它们沉淀到试管底部形成沉淀物，而较小的且密度较低的组分仍留在上层悬浮液中，这部分被称为上清液。



速度沉降

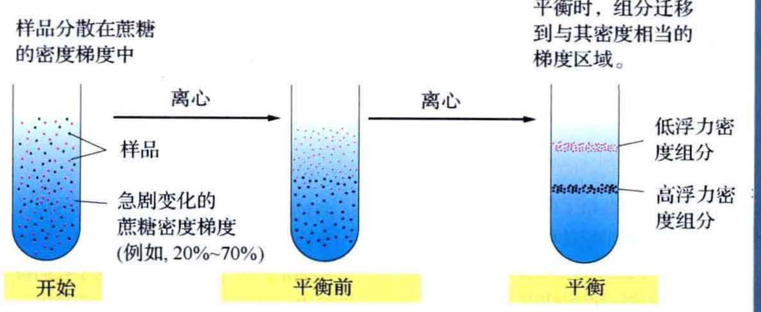


当小心地在稀盐溶液上铺一层样品并离心时，亚细胞组分将根据其大小以不同的速度沉淀。为了稳定沉淀的组分，避免在试管中发生对流性混合，溶液含有一系列连续浓度的蔗糖溶液。从试管顶端到试管底部，蔗糖溶液的浓度逐渐增大。常用的是5%~20%蔗糖。当细胞的不同组分在这样的蔗糖梯度中沉降一段时间后，不同的细胞组分便分离形成明显区别的条带，可逐一收集。

经过适当时间的离心后，条带可以被收集起来。如图所示，最简单的办法是在塑料离心管的底部穿孔，从底部开始收集液滴。

平衡沉降

根据浮力密度不同，超速离心能被用来分离细胞组分，这并不依赖组分的大小或形状。样品可加在含有很高浓度和很陡密度梯度的蔗糖或氯化铯的顶部，或分散于其中。离心时，每个亚细胞组分都将上、下移动，直至到达其密度与周围溶液的密度相等的位置时才停止移动。最终将形成一系列明显的条带，其中试管底部的条带含有浮力密度最大的组分。这种方法又被称为密度梯度离心。

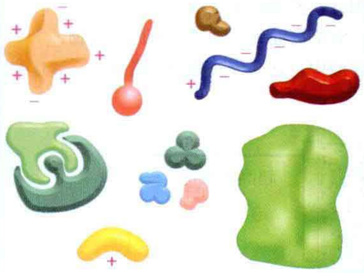


这里显示的是蔗糖的梯度，而氯化铯能形成更为稠密的梯度，这在分离核酸(DNA和RNA)时尤为有用。

如图所示，最终的条带可以从试管底部收集。

图版4-5 用层析法分离蛋白质

蛋白质分离



蛋白质极具多样性。它们的大小、形状、电荷、疏水性以及与其他分子的亲和性各不相同。所有这些特性均可被用来分离蛋白质，以便能单个地进行研究。

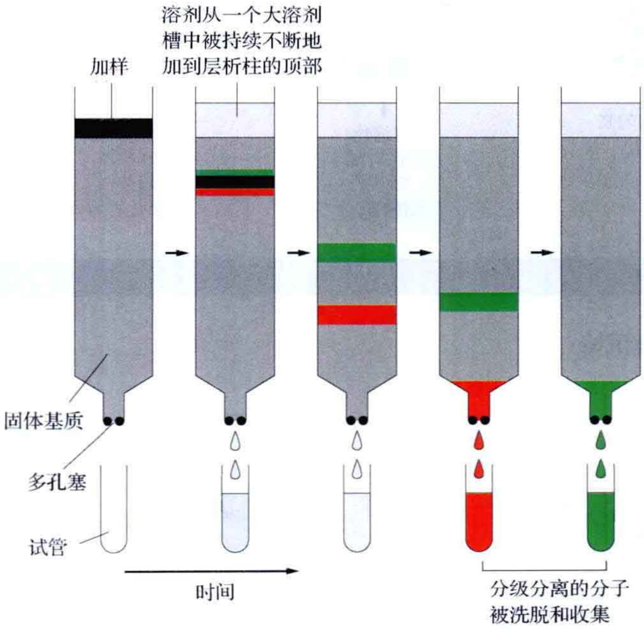
三种类型的层析

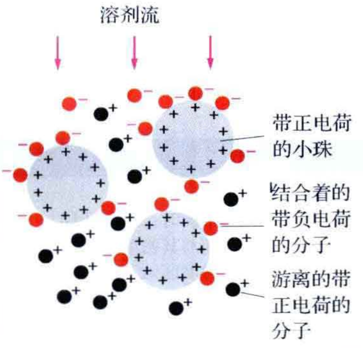
尽管可用于层析的基质的材料各不相同，但基质通常以小珠形式填充在层析柱中。一个典型的蛋白纯化路线可依次运用以下三种基质中的一种，最终蛋白的纯度可提高10 000倍。

纯度可用凝胶电泳来检测(图版4-6)。

柱层析

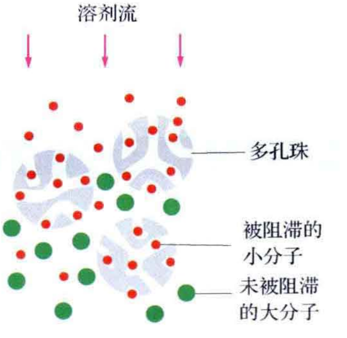
蛋白质通常采用层析柱分离。将溶液中的蛋白质混合物加在圆柱形的填充柱顶部，填充柱中装填了浸在溶剂中的、具有可渗透性的固体基质。然后将大量溶剂泵入柱子。由于不同的蛋白质与基质相互作用而产生不同程度的阻滞，当它们流出填充柱底部时可分别加以收集。根据填充基质的选择，以及蛋白质的电荷、亲水性、大小或其与特定化学基团的结合能力而将其分离。





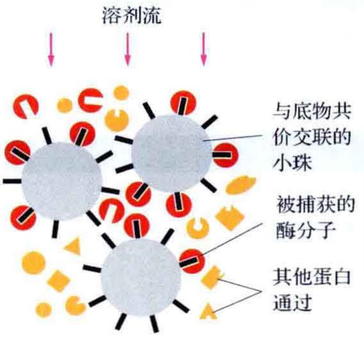
(A) 离子交换层析

离子交换柱内装填了带正电或负电的小珠，能阻滞带异性电荷的蛋白质。一个蛋白与基质之间的结合依赖于流经交换柱的溶液的pH和离子强度。这种方法经可适当改动，以达到有效分离的目的。



(B) 凝胶过滤层析

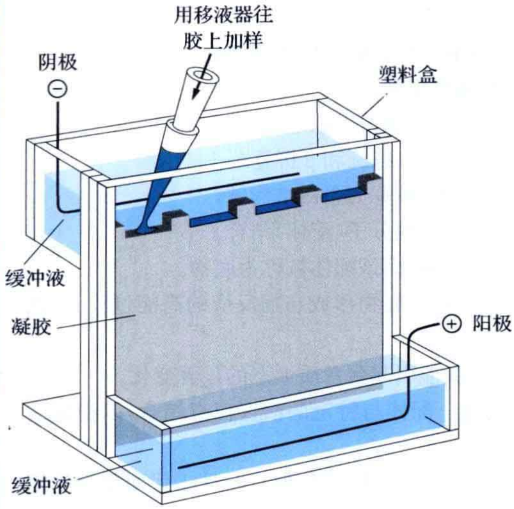
凝胶过滤柱依据其大小不同而分离蛋白质。基质由多孔小珠构成。足够小的蛋白分子进入小珠中的小孔而被延迟，通过层析柱的时间也就越慢。不能进入小珠的蛋白先被洗脱出来。这类柱子也可用来估计蛋白质的大小。



(C) 亲和层析

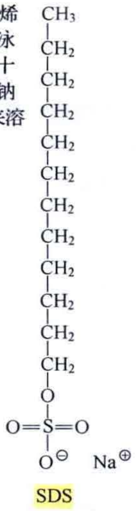
在亲和柱中，偶联在基质上的分子与目标蛋白存在着特异性的相互作用(例如，抗体或酶底物)。特异性结合层析柱的蛋白质最终可通过改变pH或高浓度的盐溶液来释放，而且它已被高度纯化(图4-49)。

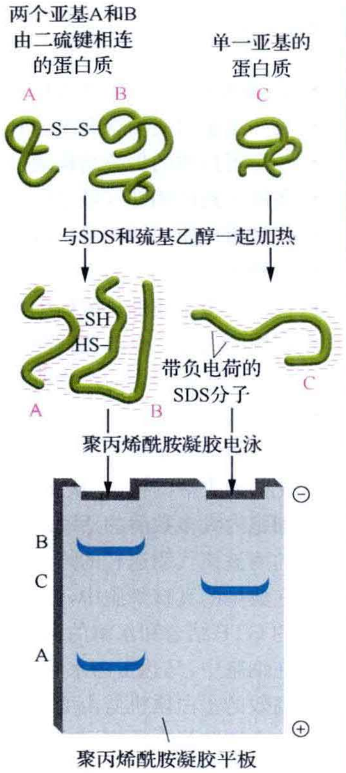
凝胶电泳



当向含有蛋白分子的溶液施以电场时，蛋白分子将按其大小和净电荷朝一定的方向以一定的速度迁移。这就形成了电泳技术的基础。

在SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳中，去垢剂十二烷基磺酸钠(SDS)被用来溶解蛋白质

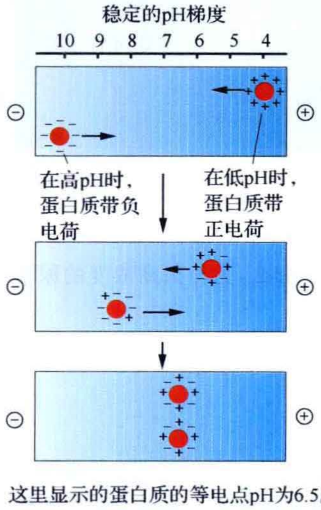




SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)单个多肽链与带负电的十二烷基磺酸钠(SDS)分子形成一带负电的SDS蛋白复合物，在多孔的聚丙烯酰胺凝胶板中迁移。使用这种电泳技术的设备如上所示(左侧)。通常要加某种还原剂(巯基乙醇)才能打开蛋白质内部或与之相连的—S—S—连接。在这些条件下，蛋白的迁移速率就反映了它的分子量。

等电聚焦

对于任何蛋白质来说，它们都有一个特征性的pH，称为等电点。在该pH时，蛋白质不带任何电荷，因此在电场中不移动。在等电聚焦过程中，蛋白质在一个狭长的聚丙烯酰胺凝胶中电泳，其中含有由特殊缓冲液混合而成的pH梯度。在pH梯度中，每种蛋白质移动到与等电点相对应的梯度时就静止不动了。

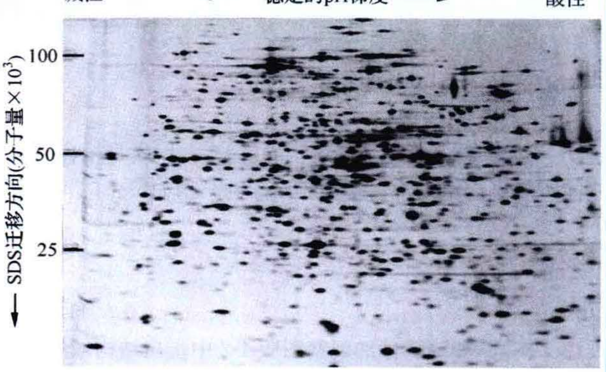


这里显示的蛋白质的等电点pH为6.5。

双向聚丙烯酰胺凝胶电泳

复杂的蛋白质混合物在单向凝胶上不能很好地分离，但双向凝胶电泳结合了两种分离方法，能够以一种二维蛋白图谱的形式分离1000多种蛋白质。第一步，根据天然蛋白质的内在电荷，用等电聚焦法(见左侧图)在一个狭长的凝胶上分离。第二步，将该胶置于凝胶板的顶端，以垂直于第一步的方向做蛋白质SDSPAGE电泳(见上侧图)。每种蛋白迁移并形成一个不连续的点。

大肠杆菌细胞中的所有蛋白质在这个双向凝胶电泳中分离。在这块凝胶中，每一个点对应于一种不同的多肽链。按其等电点从左到右和分子量从上到下的方式，这些蛋白质被很好地分离了。(蒙Patrick O' Farrell惠许)



基本概念

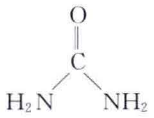
- 活细胞含有一套极其多样的蛋白质分子，每个蛋白质分子由氨基酸线性长链共价相连而成。
- 每一类蛋白质均含有决定其三维构象和生物学活性的独特的氨基酸序列。
- 一个蛋白质的折叠结构通过多肽链的不同部分之间非共价的相互作用而得以稳定。
- 多肽主链的相邻区域之间的氢键通常使多肽产生规则的折叠方式，即 α 螺旋和 β 折叠。
- 许多蛋白质的结构可以再分成拥有致密三维结构的较小的球形区域，被称为蛋白结构域。
- 一种蛋白质的生物学功能，取决于其表面的化学特性以及它如何与其他分子（配体）结合。
- 当一个蛋白质催化配体中共价键的形成和断裂，则该蛋白质被称为酶，而该配体被称为底物。
- 在酶的活性位点上，折叠的蛋白质的氨基酸侧链被精确定位，这有利于底物形成与酶反应的高能过渡态，该状态是底物转变为产物所必须经历的。
- 许多蛋白质的三维结构已经发生进化，以至于它们结合小型配体就能引起蛋白质形态的显著变化。
- 大多数的酶是变构蛋白质，即存在两种催化活性完全不同的构象。配体与特定的活性位点结合，以稳定活化的或失活的构象，从而使配体开启或终止酶的活性。
- 细胞内大多数酶的活动是受到严格调控的。最常见的一种调控形式是反馈抑制，即一个处于代谢途径早期的酶被该代谢途径的终产物所抑制。
- 在典型的真核细胞中，数以千计的蛋白质不是受磷酸化和去磷酸化循环的调节，就是受 GTP 结合蛋白介导的 GTP 结合和水解的调节。
- 在细胞中，马达蛋白水解 ATP 并成为 ADP，从而产生定向的移动。
- 高效的蛋白质机器由变构蛋白质装配而成，通过相互协调构象的变化来执行复杂的细胞功能。
- 一个调节蛋白质密码建立在多个氨基酸侧链的共价修饰的基础之上，它使每个细胞能够控制其蛋白复合物的定位和装配。
- 从细胞匀浆的粗提液开始，通过一系列层析的步骤可得到单一蛋白纯品。我们纯化某个蛋白质后，能够通过生化技术揭示蛋白质的化学形式，并且确定蛋白质精确的三维结构。

关键词

活性位点	层析	球蛋白	蛋白质	调节蛋白密码
变构的	卷曲螺旋	GTP 结合蛋白	蛋白结构域	二级结构
α 螺旋	构象	螺旋	蛋白家族	侧链
氨基酸序列	二硫键	配体	蛋白激酶	亚基
抗体	电泳	马达蛋白	蛋白质机器	过渡状态
抗原	酶	核磁共振光谱学	蛋白磷酸酶	X 射线晶体学
β 折叠	反馈抑制	多肽，多肽链	蛋白磷酸化	
结合位点	纤维蛋白	多肽主链	蛋白组学	

问题

问题 4-1 在图 4-7 所示的实验中，尿素是一种破坏水分子氢键网络的分子。那么，为什么高浓度的尿素能够使蛋白质发生去折叠？尿素的结构如下：



问题 4-2 请仔细观察图版 4-2 中蛋白结构域的模式图。请问 α 螺旋是左旋还是右旋的？形成 β 折叠的三条肽链是平行还是反向平行的？从蛋白的 N 端（紫色）开始，让你的手指沿着多肽主链移动。有结点吗？为什

么呢？

问题 4-3 请读者回忆一下，在β折叠中，每一条多肽主链上伸出的侧链交替地指向折叠平面的上方和下方(图 4-10)。假设一个蛋白质的序列如下：Leu—Lys—Val—Asp—Ile—Ser—Leu—Arg—Leu—Lys—Ile—Arg—Phe—Glu。当这个氨基酸序列被包含在一个β折叠中时，你能否发现它的氨基酸排列有什么特殊之处？你能预测在这个蛋白质中β折叠是如何排列的吗？(提示：请参考图 4-3 给出的氨基酸特性。)

问题 4-4 在蛋白质中，虽然只有极少数的随机突变是对细胞有利的，但有利的突变能够在进化中被选择下来。由于这种突变太少了，所以在产生一个有利突变的同时，往往有无数个突变导致蛋白质并没有什么改进或者产生无活性的蛋白质。那么，为什么细胞内并不含有数百万种毫无用处的蛋白质呢？

问题 4-5 毛发大多由角蛋白丝构成。单个角蛋白丝相互之间通过多个“二硫键”共价交联。如果用能够破坏这种交联的、温和的还原剂处理卷发，拉直而后再氧化，毛发仍保持伸直状态。请绘制一个图表，从分子水平上解释这个化学和物理过程的不同阶段，并将问题集中在二硫键上。如果用能够破坏所有二硫键的强还原剂处理毛发，试想那将会发生什么结果呢？

问题 4-6 请解释一个酶(以文中提及的己糖激酶为例)是如何区分底物(D-葡萄糖)及其光学异构体(L-葡萄糖)的。(提示：请注意一个碳原子的四个单键呈四面体排列，围绕着单键的光学异构体彼此互为镜像。将底物画成一个简单的四面体，四面体的四个角各不相同，请画出它的镜像对称图。请用这幅图来说明为什么只有一个化合物能够结合到一个酶的活性位点上。)

问题 4-7 参见图 4-34，如果不是图中所示的反馈，那将会发生什么情况？

A. 来自 Z 的反馈抑制只影响 B→C 这一步？

B. 来自 Z 的反馈抑制只影响 Y→Z 这一步？

C. Z 是 B→X 的正调控因子？

D. Z 是 B→C 的正调控因子？

针对每一种情况，请探讨这些调控形式对一个细胞起到什么作用？

问题 4-8 请解释磷酸化以及结合一个核苷酸均可用以调节蛋白的活性。请你假设，任何一种调控形式的优点是什么？

问题 4-9 与非关联的、连续的作用方式相比，当图 4-43 中的酶作为蛋白质复合物发挥作用时，为什么它在打开“途中的保险箱”方面具有很大的优势？

问题 4-10 下列哪些叙述是正确的？请解释你的答案。

A. 一个酶的活性位点通常只占到它表面的很小一部分；

B. 某些酶的催化作用涉及氨基酸侧链和底物分子之间共价键的形成；

C. 一个β折叠至多包含 5 条链，不可能再多；

D. 一个抗体分子的专一性只取决于其折叠的轻链结构域表面上的环；

E. 氨基酸可能的线性排列是如此之多，以致新的蛋白质几乎不可能通过改变原来的蛋白质而进化；

F. 变构酶含有两个或多个结合位点；

G. 非共价键强度太弱，不能影响大分子的三维结构；

H. 亲和层析法按照分子内在电荷的不同而分离分子；

I. 将细胞离心匀浆时，较小的细胞器比大型的细胞器经受较小的摩擦，因而更快地沉淀。

问题 4-11 α螺旋和β折叠的什么共同特征使它们成为蛋白质的通用结构单元？

问题 4-12 蛋白质的氨基酸序列是唯一决定蛋白质结构的因素。一个氨基酸序列完全相反的基因工程蛋白会和原来的蛋白质拥有同样的结构吗？

问题 4-13 假设下列的蛋白质序列为α螺旋：Leu—Lys—Arg—Val—Asp—Ile—Leu—Ser—Arp—Leu—Phe—Lys—Val。这个α螺旋有多少个转角？当折叠形成α螺旋时，你是否发现该序列中的氨基酸排列有什么特殊之处？(提示：参考图 4-3 中氨基酸的特性)。

问题 4-14 简单的酶反应通常符合下列等式

$$E+S \rightleftharpoons ES \longrightarrow EP \rightleftharpoons E+P$$

在这里，E、S 和 P 分别是酶、底物和产物。

A. 在这个等式中，ES 代表什么？

B. 为什么第一步反应用双向箭头表示，而第二步反应用单向箭头表示？

C. 为什么 E 在等式的两端出现？

D. 人们常常发现高浓度的 P 能够抑制酶，试解释为什么发生这种情况。

E. 复合物 X 类似于 S，能结合酶的活性位点，但不能进行酶的催化反应。请你设想把 X 加到反应中会有什么影响？比较 X 和 P 积累的效应。

问题 4-15 请你预测下列氨基酸中哪些会更容易出现在折叠的球蛋白的中心附近？哪些又容易暴露在蛋白外表面？请解释你的答案。Ser、Ser-P（磷酸化的 Ser 残基）、Leu、Lys、Gln、His、Phe、Val、Ile、Met、Cys—S—S—Cys（两个通过二硫键相连的半胱氨酸）和 Glu。哪些氨基酸又容易出现在蛋白质的 N 端和 C 端？

问题 4-16 假设你想制造和研究蛋白质的若干片段。你认为这条多肽链的任一片段均能以在完整蛋白质中的相应方式发生同样的折叠吗？请参考图 4-12 所示的蛋白质，你认为哪些片段最可能发生正确的折叠？

问题 4-17 从生长在 20℃的突变菌株中分离得到一种酶，这种酶在 20℃时正常工作，而在 37℃时却不能发挥功能（37℃是肠道的温度，这个细菌平时就在这里正常生长）。而且，这个酶一旦暴露在较高温度后，就不能再在低温下有功能了。从正常细菌中分离出来的这种酶在两种温度下均有功能。你能否提出当温度升高时，这个突变的酶在分子水平上发生了什么变化？

问题 4-18 在细胞中，马达蛋白沿着微丝移动。为什么图中列举的要素不能充分保证蛋白运动的单向性（图 Q4-18）？请参考图 4-42，修改该图并将一些产生单向马达的必要因素包括进去，同时说明你对该图所做的每一个修改。

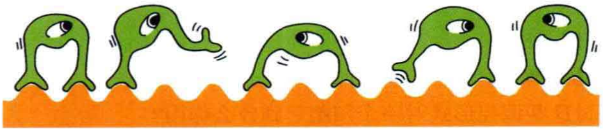


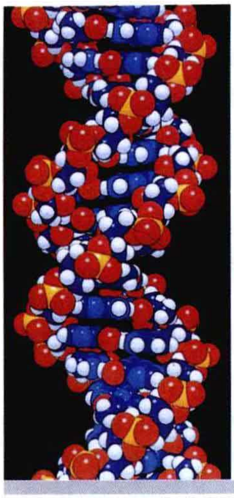
图 Q4-18

问题 4-19 根据分子大小的不同，凝胶过滤层析可以分离不同的分子（图版 4-5）。在溶液中，小分子的扩散比大分子快，而小分子通过层析柱却比大分子慢。请解释这类看似矛盾的现象。如果流速特别快，那又将发生什么情况？

问题 4-20 α 螺旋和由 α 螺旋形成的卷曲螺旋都是螺旋结构，不过它们的手性完全相同吗？

问题 4-21 即使当氨基酸离蛋白质的结合位点很远时，单个氨基酸的突变是否可能会导致一个含有 1000 个氨基酸的蛋白质的功能丧失？

（陈跃磊　译）



5 DNA和染色体

5.1 DNA的结构和功能
5.2 真核生物染色体的结构
5.3 染色体结构的调节

细胞能够储存、解读并且翻译遗传指令以形成并维持一个生物体，这是生命存在的基础。在细胞分裂时，遗传信息由一个细胞传递到它的子代细胞。在多细胞生物体的世代之间，遗传信息通过生殖细胞传递。这些指令储存于每个活细胞内的基因——含有信息的因子，它们从整体上决定一种物种的特征，以及其中每个个体的特征。

20世纪初，当遗传学成为一门科学时，科学家们就开始对基因的化学性质产生极大的兴趣。在一个多细胞生物体的一生中，基因所含的信息要经过上百万次的复制并且从一个细胞传递到子代细胞，整个生存的过程基本保持不变。什么样的分子具备这种精确、无限制复制的能力，又能指导生物体的发育和细胞的生命周期呢？遗传信息含有怎样的指令？即便是最简单的生物体，也需要巨大数量的遗传信息来指导发育和维持生存，而这些信息是包含在一个细胞的微小空间内的，那么，这些指令在物理上是如何组织起来的呢？

20世纪40年代，对简单真菌的研究揭示了遗传信息主要是指导蛋白质合成的指令，从此，上述问题逐渐得到解答。蛋白质是执行大部分细胞功能的大分子：它们是细胞的结构单元，形成催化细胞内化学反应的各种酶，调节基因表达，使细胞能够移动，能够与其他细胞相互联络。很难想象基因的遗传信息还能包含其他什么指令。

20世纪40年代的另一个重大突破是发现了脱氧核糖核酸(DNA)可能是遗传信息的载体。然而，在1953年James Watson和Francis Crick揭示DNA的结构以前，人们并不了解如何使遗传信息能在细胞间代代传递而进行复制的机制，也不了解DNA中的指令如何指导合成特定的蛋白质。DNA结构的发现很快揭示了DNA是如何拷贝(或者说复制)的。此外，这一发现还为DNA分子是如何编码合成蛋白质的指令提供了线索。时至今日，DNA是遗传物质这一点已经是生物学最为基本的理论知识，以致现在已很难体会当初这一发现填补了人类知识领域多么巨大的空白。

本章我们将从DNA的结构开始介绍。DNA分子尽管在化学组成上很简单，但它的结构和化学特征使之成为理想的构成基因的原材料。地球上，每一个细胞内的基因都是由DNA组

成的，通过对多种生物体的实验，我们对 DNA 和基因之间的相互关系有了一定的了解。接着，我们将讨论基因和其他重要的 DNA 片段是如何在染色体中的 DNA 分子上排列的。最后，我们要探讨真核细胞是如何将这些长长的 DNA 分子折叠成细胞核内压缩的染色体。这一压缩包装必须高度有序，使染色体可以复制，并且在细胞有丝分裂期正确地分配给两个子细胞。当染色体 DNA 受损时，修复的酶必须能够到达损伤位点；同时，指导多种基因表达的专一性蛋白质也要能够结合到 DNA 上。

本书共有五章介绍了基本的遗传机制——细胞用于复制、修复、表达以及偶尔改进 DNA 上携带的遗传信息。本章是其中的第 1 章。每个细胞包含的所有信息称为细胞的**基因组**。在第 6 章中，我们讨论细胞精确地进行复制和修复 DNA 的机制；我们也描述了 DNA 序列是如何通过遗传重组实现重排的。基因表达——DNA 编码的信息通过细胞的翻译来指导蛋白质的合成——这部分内容就是第 7 章的主题。在第 8 章中，我们描述了细胞如何控制基因表达，以确保 DNA 编码的数以千计的蛋白质中的每一个能在恰当的时间和地点出现在细胞的各个生命阶段。我们在第 9 章中讨论了遥远的祖先是如何演变成现今的基因和基因组。而在第 10 章中，我们则为大家呈现了大量用于研究 DNA 和 DNA 在基本细胞过程中的作用的实验技术。

5.1 DNA 的结构和功能

早在生物学家了解 DNA 结构之前，他们就已经认识到遗传性状和决定这些遗传性状的基因都与染色体之间存在联系。19 世纪，发现了染色体（chromosome，源于希腊语 *chroma*，“有色的”——根据它的染色特性）。这是真核细胞核内的一种丝状结构，可在细胞开始分裂时观察到（图 5-1）。随着生物化学分析的发展，研究者发现染色体是由 DNA 和蛋白质组成的。但是，究竟是哪一部分编码了生物体的遗传信息并没有全部研究清楚。

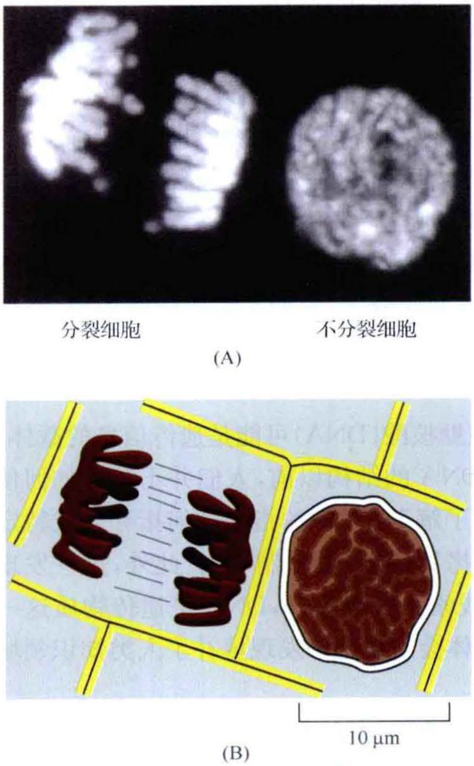


图 5-1 当细胞准备分裂时，染色体变得可见。(A)光学显微镜下拍到的两个相邻的植物细胞。DNA 被与之结合的荧光染料(DAPI)染得很亮。DNA 存在于染色体上，如左图所示，细胞即将分裂，染色体结构变得致密，成为光学显微镜下可见的构造。右图中的细胞处于非分裂状态，它与左边的细胞有相同的染色体，但在细胞周期的这个阶段，它们处于一种伸展的状态，因而不能在光学显微镜下分辨单个染色体。(B)两个细胞及它们的染色体的示意图。(A 蒙 Peter Shaw 惠许)

现在我们知道，DNA 携带着细胞的遗传信息，而染色体的蛋白质组分的主要功能是包装和控制这奇长无比的 DNA 分子。由于 DNA 分子化学结构很简单，20 世纪 40 年代的生物学家很难接受 DNA 是遗传物质这一观点（请见“我们如何得知”）。在他们看来，DNA 只是一种由 4 种亚基组成的简单的长多聚物，而从化学角度来看，这 4 种亚基相互之间是非常相似的。

20 世纪 50 年代早期，一种用于确定一个分子的三维原子结构的技术（见第 4 章中的“我们如何得知”），即 X 射线衍射分析，开始应用于 DNA 研究。早期的 X 射线衍射结果表明 DNA 由两条链组成，它们相互盘绕，形成一个螺旋。观察到 DNA 的双链结构是极其重要的，它为 1953 年提出正确的 DNA 结构模型提供了最为重要的线索。

一旦 Watson-Crick 提出了 DNA 的结构模型，DNA 复制和信息编码的潜能就变得明显起来。在本节内容中，我们将考察 DNA 分子的结构，并且解释它是如何做到储存遗传信息的。

5.1.1 一个 DNA 分子是由两条互补的核苷酸链组成的

一个**脱氧核糖核酸（DNA）**分子含有两条长的多聚核苷酸链，每条 DNA 链均由 4 种核苷酸亚基组成。两条链通过核苷酸上碱基基团之间的氢键作用（图版 2-7）结合在一起（图 5-2）。

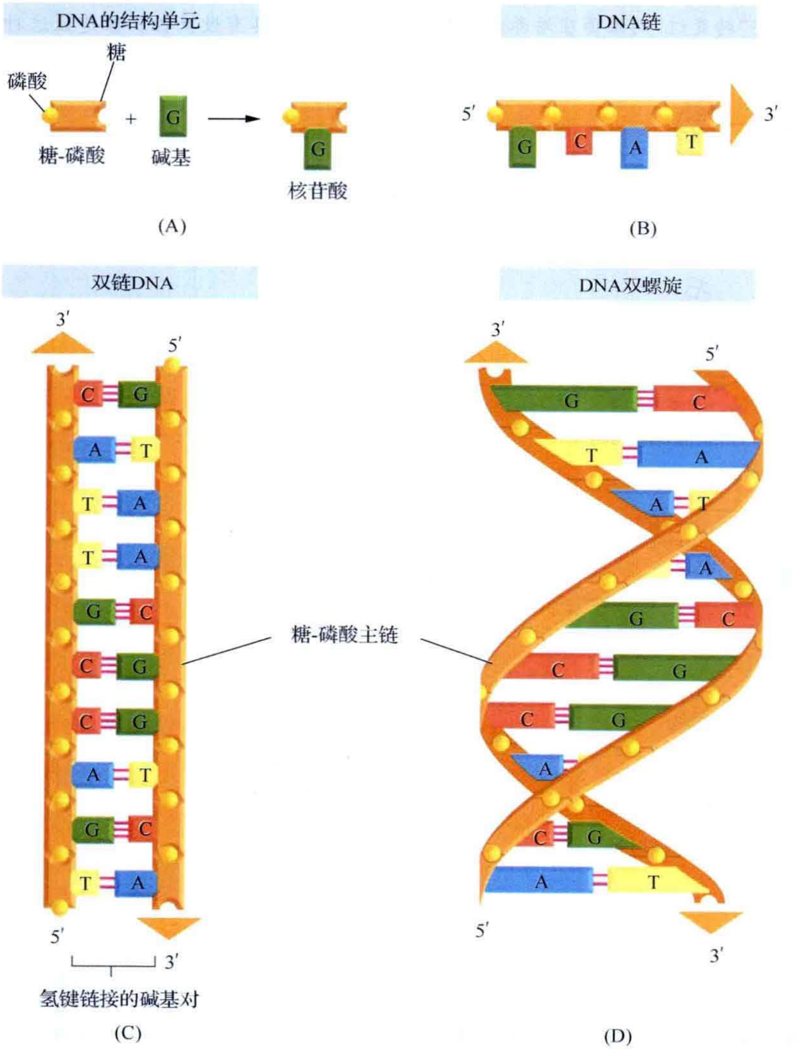


图 5-2 DNA 的结构单元是四种核苷酸。（A）每个核苷酸由糖-磷酸基团共价连接一个碱基组成。（B）核苷酸共价连接在一起形成多聚核苷酸链，以糖-磷酸为主链，4 种碱基（A，C，G，T）从主链上伸出。（C）一个 DNA 分子由两条多聚核苷酸链（DNA 链）组成，它们通过由配对的碱基间的氢键作用结合在一起。DNA 链上的箭头表示两条链的极性，它们在 DNA 分子内彼此反向平行。（D）虽然图（C）所示的 DNA 以伸展状态表示，但事实上应如此图所示，DNA 环绕成双螺旋。

我们如何得知：基因由 DNA 组成

在 20 世纪 20 年代，科学家们一般接受基因存在于染色体上的观点，同时也知道染色体由 DNA 和蛋白质组成。但是，由于从化学角度来看 DNA 过于简单，研究者们自然而然推测基因只能是由化学性质更多样的蛋白质组成。即使实验证据表明可能并非如此，这种臆断还是很难被动摇。

来自死亡的信息

DNA 的研究出现在 20 世纪 20 年代末。当时一个名叫 Fred Griffith 的医务人员有了惊人的发现。他一直在研究肺炎链球菌，这是一种会导致肺炎的细菌。由于当时还没有发现抗生素，感染这种细菌通常是致命的。当这种细菌在实验室生长时，它出现了两种形态：一种为致病形态，当被注射入动物体内时，会使之感染致死；另一种是无害形式，则是可以被动物的免疫系统轻而易举地抵御而不产生任何感染。

在 Griffith 的研究过程中，他将该细菌的各种形式注射入小鼠体内。他发现通过加热致死的致病肺炎链球菌无法引起感染。但当 Griffith 将通过加热致死的致病菌和活的无害菌一起注射入同一只小鼠体内时，却发生了一种令人惊奇的现象。这种混合物被证实是致命的：不仅动物死于肺炎，它的血液中也挤满了活的致病菌（图 5-3）。通过加热致死的肺炎链球菌以某种方式将无害菌转变成了致病菌。不仅如此，Griffith 还发现这种转变是永久性的：他可以让这些“转变过”的细菌在培养皿中生长，而且它们仍具有致病性。但是让这种无危害的细菌转变成致命杀手的秘密是什么？这些变化又是如何传递到后代细菌的？

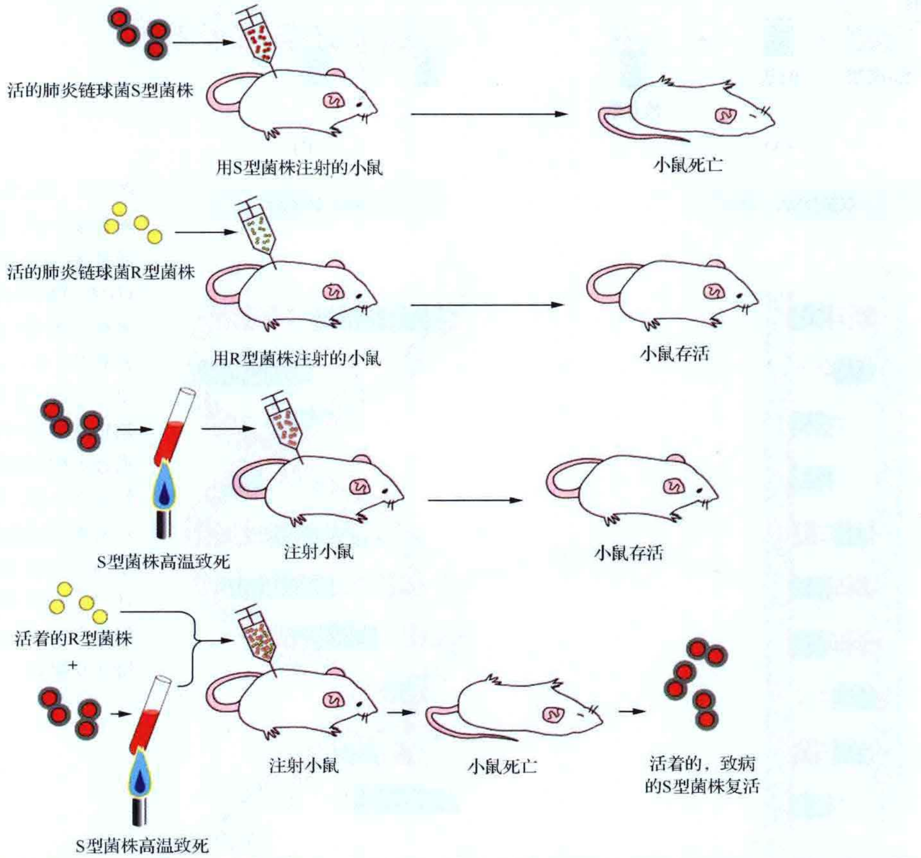


图 5-3 Griffith 证明加热致死的细菌可以转化活细胞。根据其在显微镜下的形态和引起疾病的能力，肺炎链球菌可以区分成两类。注入老鼠体内会致命的致病菌株的细胞看起来是一个黏滑的、闪闪发光的多聚糖囊。当这种致病的细菌在实验室内富含营养的平板中生长时，它形成了圆顶状且光滑的菌株形式，因此将它命名为 S 型。肺炎球菌无危害的菌株因缺乏这层保护的外壳，形成的菌株扁平而粗糙——因此将它命名为 R 型。如图所示，Griffith 发现在致病的 S 型菌株中有一种物质可以将非致病的 R 型菌株永久地改变或者称为转化成致命的 S 型菌株。

吹泡泡

Griffith 这一值得纪念的发现为首次证实基因是由 DNA 组成的那些实验建立起一个平台。美国细菌学家 Oswald Avery 继续 Griffith 的工作并发现，当在试管内将无害的菌暴露于来自致病菌的提取物时，它就会转变成致病性病菌。然而 Avery 和他的两个同事 Colin MacLeod 和 Maclyn McCarty 花了 15 年时间才成功地从这种可溶性的提取物中纯化到这个"转化要素"，并且证明其中起作用的组分是 DNA。由于接收到转化要素的细菌产生了可遗传的变化，所以 DNA 一定是基因的重要组成部分。

这一发现之所以迟来了 15 年，在某种程度上是由于当时的学术环境——当时广泛传播的假设是遗传物质可能是由蛋白质组成的。而这些研究者的工作有可能有各种解释或结果，因此他们要在完全确证该转化要素就是 DNA 之后，才对外宣布他们的这一发现。在一封 Avery 写给他同是细菌学家的弟弟的信中提到，"吹泡泡很有趣，但明智的做法是在别人试图刺破它之前自己先把它刺破"。因此，研究者将这些转化物质做了一系列化学测试(图 5-4)。他们发现这种物质具有 DNA 所有的化学性质特征；他们还进一步表明，能破坏蛋白质和 RNA 的酶并不能影响该物质转化细菌的能力，而能破坏 DNA 的酶却能使它失活。像他们之前的研究者 Griffith 一样，他们发现纯化过的制剂可永久地改变细菌：来自致病菌种中的 DNA 被无害的菌种摄取，而这种改变会被一直传递到下一代的细菌中。

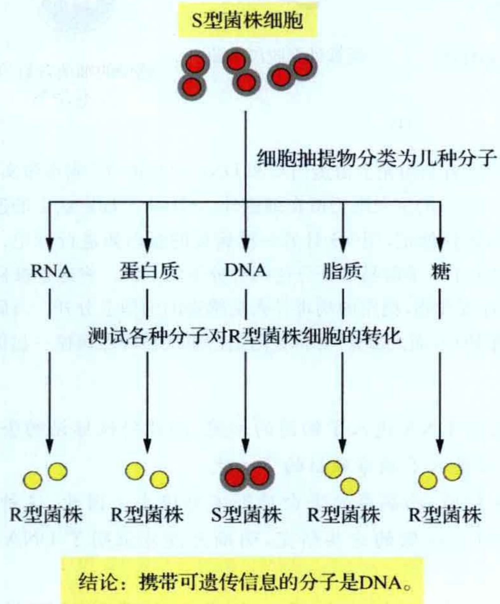


图 5-4 Avery，MacLeod 和 McCarty 证明 DNA 是遗传物质。这些研究者从致病的 S 型菌株中得到了一种提取物，证实了 DNA 就是将无危害的 R 型肺炎双球菌菌株永久性地变成 S 型致病菌株的"转化要素"。这是证明 DNA 是遗传物质的第一个证据。

这一里程碑式的研究为纯化的 DNA 作为遗传物质提供了有力的证明。但是 1944 年发表的实验结果却几乎没有引起关注。除了对他们的实验操作进行过仔细的推敲以外，人们还是不相信 DNA 是遗传物质。许多人认为这些转化是由于实验过程工作中的一些微量蛋白污染物所造成的，或是提取物中可能含有一种致突变物，改变了无害菌的遗传物质，使之成为致病形式而其本身并不包含遗传物质。

病毒鸡尾酒

这个争论一直没有彻底停止，直到 1952 年 Alfred Hershey 和 Martha Chase 按下了他们实验室的搅拌器按钮，明确地证明了基因就是 DNA。研究人员当时正在研究 T2——这是一种能感染并最终摧毁大肠杆菌的病毒。这些可以杀死细菌的病毒的行为就像是分子注射器：它们将遗传物质注入宿主细胞，而空病毒的头仍然留在被感染的细菌外面(图 5-5A)。一旦病毒的基因进入细胞，它就会指导新的病毒颗粒的形成。不出一个小时，被感染的细胞就会爆炸，喷出成千上万新的病毒到培养基中。然后它们再去感染邻近的细菌，重新开始这一过程。

T2 病毒的优点在于这些病毒只含有两种分子：DNA 和蛋白质。因此，遗传物质不是这个就肯定是另一个。究竟是哪一个呢？该实验相当直接。由于病毒的 DNA 是进入细菌细胞的，而病毒颗粒的其余部分仍留在外面，研究者决定在一批病毒的蛋白质上和另一批病毒的 DNA 上分别进行两种放射性标记。然后他们需要做的就是根据放射性标记观察进入细菌伤口的是病毒的 DNA 还是病毒的蛋白质。

为了做这个实验，Hershey 和 Chase 将放射性标记过的病毒和大肠杆菌一起培养；经过几分钟感染后，他们将混合物注入一台 Waring 搅拌器并按下“搅拌”按钮。搅拌器的旋转刀片将留在细菌细胞表面的空病毒外壳分离。然后他们离心样本，将较重的、被感染的细菌和空的病毒外壳分开。前者在离心管的底部形成沉淀，后者则留在悬浮液中(图 5-5B)。

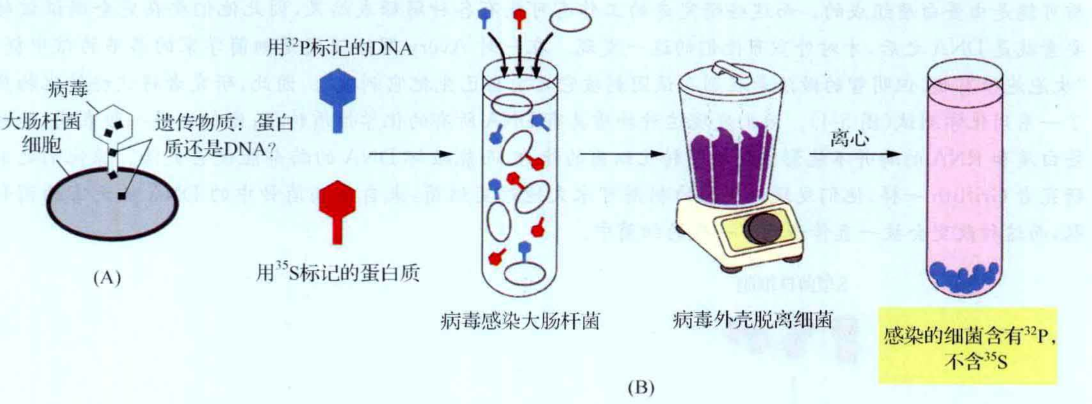


图 5-5　Hershey 和 Chase 明确地证实基因由 DNA 组成。(A)研究者利用完全由蛋白质和 DNA 组成的 T2 病毒做实验，每个病毒充当一个分子注射器，它将遗传物质注射到一个细菌里；而病毒的空壳则仍留在细胞外。(B)为了确定病毒的遗传物质究竟是蛋白质还是 DNA，研究者将一批病毒的 DNA 用^{32}P 放射性标记，用^{35}S 对另一批病毒的蛋白质进行标记。由于 DNA 中没有硫，而蛋白质中缺乏磷，这些放射性核素为研究者提供了一个简易的区分这两种分子的方法。将这些被标记过的病毒感染大肠杆菌，然后在 Waring 搅拌器中用短暂的脉冲搅拌混合物，把空的病毒外壳从感染的细菌上分开。当研究者检测放射性时，他们发现大多数^{32}P 标记的 DNA 进入了细菌的细胞中，而大部分^{35}S 标记的蛋白质则和病毒颗粒一起仍然留在溶液中。

正如你所猜想的，Hershey 和 Chase 发现放射性标记的 DNA 进入了细菌的细胞，而放射性标记的蛋白质仍然留在空的病毒头中。他们发现放射性标记的 DNA 还进入了病毒颗粒的下一代。

这个实验明确表明，病毒的 DNA 进入了细菌的宿主细胞，而病毒的蛋白质则不会进去。因此，这种病毒的遗传物质只能是由 DNA 组成。Avery、MacLeod 和 McCarty 做的这些研究，明确无误地证明了 DNA 是遗传物质。

正如我们在第 2 章中所见到(图版 2-6)，核苷酸由一个结合了一个或多个磷酸基团的五碳糖以及一个含有氮原子的碱基组成。而在组成 DNA 的核苷酸中，糖是一个脱氧核糖结合了一个单一的磷酸基团(这也是脱氧核糖核酸名称的来源)，而碱基可以是腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)四者之一。核苷酸通过共价键连接成一条链，形成一个由交替的糖-磷酸-糖-磷酸组成的“主链”(图 5-2B)。4 种亚基的唯一区别在于它们的碱基，因此 DNA 分子中的每条多聚核苷酸链可以想象成 4 种不同的珠子(碱基 A、C、G 和 T)串在一条项链(主链)上。4 种碱基的符号(A、C、G 和 T)也被广泛地用于代表 4 种不同的核苷酸。

核苷酸之间共价连接的方式使 DNA 链具有了化学上的极性。如果我们把每个核苷酸想象成由一个把手(磷酸基团)和一个门洞(图 5-2A)组成，每条链则由把手和门洞相互连锁形成，所有的亚基均表现出相同的方向性。而且，链的两端是很容易区分的，一头是把手(3′羟基)，另一头是门洞(5′磷酸基团)。人们通常以一端为 5′端，而另一端为 3′端来表示 DNA 链的极性。这种命名方式是基于核苷酸亚基间的化学连接特性。

DNA **双螺旋**中的两条多聚核苷酸链，通过两条链上的碱基间的氢键作用结合在一起。因此，所有碱基均在螺旋的内侧，糖-磷酸主链在外侧(图 5-2D)。碱基并不是随机配对的：A 总是和 T 配对，G 总是和 C 配对(图 5-6)。在这两种情况下，都是一个体积较大的双环碱基(嘌呤，图版 2-6)和一个单环碱基(嘧啶)配对。每一对配对的嘌呤—嘧啶称为**碱基对**。正是这种互补性的碱基配对，保证了碱基对以在能量方面最有利的方式排列在双螺旋的内部。这样的排列方式使得每个碱基对保持相同的距离。由于 DNA 的两条链反向平行——也就是说，一条链的极性取向与另一条的相反，所以每个碱基刚好能被容纳在双螺旋内部(图 5-2C 和 D)。然后，这两条反向平行的糖-磷酸链互相扭在一起，形成一个每个螺旋含有 10 个碱基对的双螺旋(图 5-7)。这种盘绕方式对于节约能量的 DNA 双螺旋构象也是功不可没的。

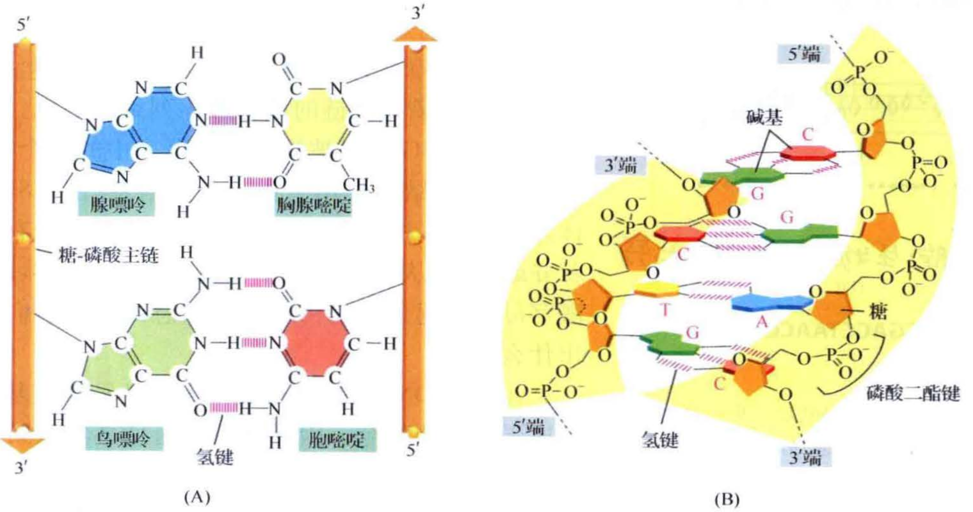


图 5-6　DNA 双螺旋的两条链通过互补碱基对之间的氢键结合在一起。(A)碱基的形状和化学结构只允许在 A 和 T、C 和 G 之间有效地形成氢键，只有这样的组合才能使有可能产生氢键的原子(图版 2-2)在不破坏双螺旋结构的情况下相互拉近，A 和 T 之间形成两个氢键，而 G 和 C 之间形成三个氢键。只有当两条多聚核苷酸链反向平行时——也就是说两条链的极性是相反的，碱基才能配对。(B)一小段双螺旋的侧面图。图中显示了四个碱基对。一个核苷酸的糖基的 3′羟基(—OH)基团和另一个核苷酸的 5′磷酸基(—PO_4)之间形成磷酸二酯键共价连接。这样，每条多聚核苷酸链都有化学极性；即它的两端在化学上是不同的。3′端带有一个未连接的—OH 基团，连接于糖环的 3′位置，5′端带有一个自由的磷酸基，连接于糖环的 5′位置。

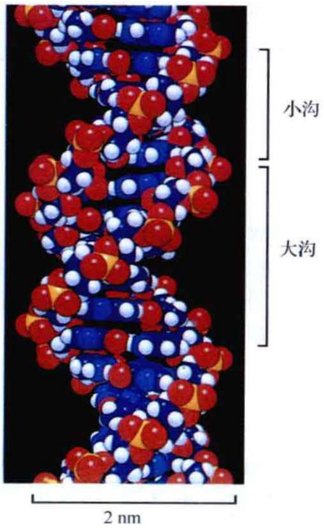


图 5-7　空间填充模型展示了 DNA 双螺旋的构象。DNA 的两条链彼此环绕形成每旋转一周有 10 个碱基的右手螺旋。图中所示的是 1.5 周 DNA 双螺旋。两条链彼此环绕旋转形成双螺旋上的两个沟。较宽的沟称为大沟，较小的沟称为小沟。原子的颜色是：N，蓝色；O，红色；P：黄色；H：白色。

碱基配对要求的结果就是，DNA 分子每条链的核苷酸序列恰好和它的对应链完全**互补**——一条链上的 A 总是与另一条互补链上的 T 配对，一条链上的 C 又总是与另一条链上的 G 配对。正如我们在第 6 章中的讨论，这种互补性对于 DNA 的复制和修复至关重要。本书随附的视频 5.1 中有 DNA 结构的形象介绍。

5.1.2 DNA 的结构提供了一种遗传机制

当一个细胞分裂为两个子细胞时，基因所携带的遗传信息必须被精确地复制和传递。围绕这一观点，有两个重要的生物学问题：决定一种生物特性的遗传信息是如何以化学形式被携带的？以及它是如何被精确复制的？DNA 双螺旋结构的发现是 20 世纪生物学的一个里程碑，因为它立刻回答了这两个问题，从而在分子水平上解决了对遗传现象的疑问。我们先在本章中概述回答第一个问题；在下一章中，我们再详细回答第二个问题。

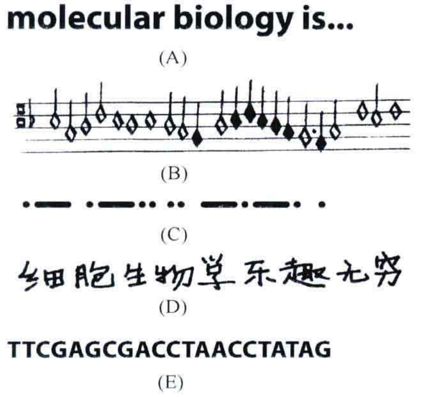


图 5-8　线性信息有多种形式。图中的语言显示的是：(A)英语。(B)乐谱。(C)莫尔斯密码。(D)中文。(E)DNA。

DNA 沿着每条链的核苷酸序列编码信息。每个碱基 A、C、T 或 G 可以被视为四字母表中的一个字母，在 DNA 的化学结构中用于拼写生物信息(图 5-8)。生物体之所以各不相同，正是因为它们 DNA 分子有不同的核苷酸序列，从而携带了不同的生物信息。然而，核苷酸字母表究竟是如何构成生物信息的呢？它们又拼写出什么呢？

在明确 DNA 的结构以前，人们已经知道基因含有合成蛋白质的指令。因此，DNA 信息必然以某种方式编码蛋白质。从蛋白质的化学特征这一角度思考使得这个问题比较容易理解。在第 4 章曾经讨论过，蛋白质的功能应归因于它的三维结构，而这种三维结构最终又是由蛋白质多肽链所包含的氨基酸序列所决定的。因此，一个基因的核苷酸线性序列必然以某种方式转化为蛋白质中氨基酸的线性序列。

从 DNA 结构来看，DNA 分子的核苷酸四字母表和蛋白质分子的氨基酸二十字母表——遗传密码子——之间的确切对应关系并不明显。在发现双螺旋结构十多年后，人们才完全了解它们之间的对应关系。在第 7 章中，我们将在解释基因表达的过程时，详细描述遗传密码子。这里提到的基因表达，就是一个细胞将其基因的核苷酸序列转录成 RNA 的核苷酸序列，然后再翻译成蛋白质的氨基酸序列的信息(图 5-9)。

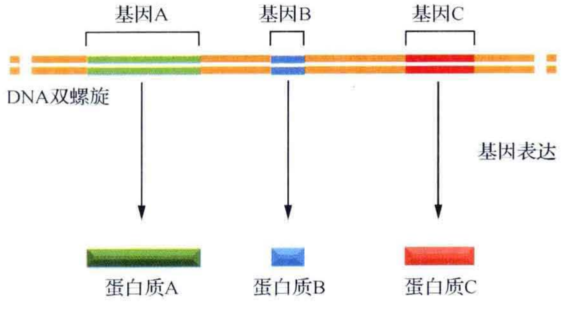


图 5-9　基因包含生成蛋白质的信息。正如我们在第 7 章中的讨论，每一个编码蛋白质的基因被用来生成 RNA 分子，然后指导生成特定的蛋白质分子。在此图中，RNA 这一中间产物没有显示。

一个生物体的 DNA 所包含的全套信息被称为该生物体的**基因组**(这一术语也被用来指携带这些信息的 DNA)。这种信息的总量是惊人的：单单只把人的一个非常小的基因用核苷酸的

4 个字母写出来，也要用去课本一页纸的 1/4，如果要写出人基因组全部 DNA 的序列，将超过 1000 本与本书篇幅相当的书。至此，出现了一个关于影响真核生物染色体结构的问题：所有这些信息是如何恰当地包装到每一个细胞核的？在本章下面的内容中，我们将寻找这一问题的答案。

5.2 真核生物染色体的结构

编码哪怕只是一个单细胞细菌的全部信息需要用到大量的 DNA，而编码例如我们人类这样的多细胞生物体的信息则需要更多的 DNA。每个人体细胞含有大约 2 m 长的 DNA；而细胞核的直径只有 5～8 μm。将所有这些 DNA 塞进一个这么小的空间，就好比一个网球内折叠了 400 km(24 英里)长的极其纤细的丝线。

在真核生物细胞内，长长的双螺旋 DNA 被压缩包装成称为**染色体**的结构。染色体不仅非常适合位于细胞核内，而且在每一次细胞分裂时，也很容易分配到两个子细胞内。包装 DNA 的复杂任务是通过与 DNA 结合并折叠 DNA 的特殊蛋白质实现的，这些特殊蛋白质和 DNA 形成一系列的螺旋和环，提供了更高层次上的结构，防止 DNA 形成纠缠不清的一团乱麻。令人惊奇的是，尽管 DNA 形成了高度致密的结构，但所有与复制、修复 DNA 以及指导基因表达相关的酶和其他蛋白质仍然能够与之结合。

细菌的基因都在一条环状的 DNA 分子上。这个分子也和压缩 DNA 的蛋白质结合，但这些蛋白质与包装真核生物 DNA 的蛋白质有所不同。虽然这种原核生物的 DNA 被称为细菌“染色体”，但是它并没有真核生物的染色体那样的结构，我们对其如何包装也知道得很少。因此本章关于染色体结构的讨论将全部集中在真核生物的染色体上。

5.2.1 真核生物的 DNA 包装在多个染色体中

真核生物(如我们人类)细胞核里的 DNA 分布在一套不同的染色体中。例如，人类基因组含有大约 3.2×10^9 个核苷酸，这些核苷酸被分到 24 条染色体内。每一条染色体由一条非常长的线性 DNA 分子和将 DNA 折叠、包装成更致密结构的蛋白质所组成。DNA 和蛋白质的复合物称为染色质。除了与 DNA 包装相关的蛋白质外，染色体还与许多其他和基因表达、DNA 复制以及 DNA 修复有关的蛋白质结合。

除了生殖细胞(精子和卵细胞)和完全缺失 DNA 的极其特殊的细胞(如成熟的红细胞)，每个人体细胞中，每条染色体有两份拷贝，一份遗传自母亲，另一份遗传自父亲。一对来源于父亲和母亲的染色体称为同源染色体(同源)。唯一一对不同源的染色体是男性的性染色体，其中 Y 染色体来自父亲，X 染色体来自母亲。

人类染色体除了大小不同，还可以用各种不同的技术逐一区分。利用不同的荧光染料与特殊的染色体 DNA 分子结合，就能给每条染色体“涂染”不同的颜色(图 5-10)。这种技术叫作 DNA 杂交技术，在第 10 章中我们将做详细的介绍。一个较为传统的区分不同染色体的方法是用能与某些 DNA 序列结合的染料来染色。这些染料主要区分富含 A-T 核苷酸对和富含 G-C 核苷酸对的 DNA 区域，染料能在每条染色体上产生明显而可重复的带型(图 5-11)。每条染色体的带型都是独特的，因而我们能加以区分并给它们编号。

人类全套 46 条染色体的展示称为人类染色体**核型**。如果染色体的一部分丢失了，或者染色体的一部分转移到了另一条染色体上，我们能通过带型的变化检测到。细胞遗传学家利用带型的变化来检测与某些遗传性疾病(图 5-12)以及与某些癌症相关的染色体异常。

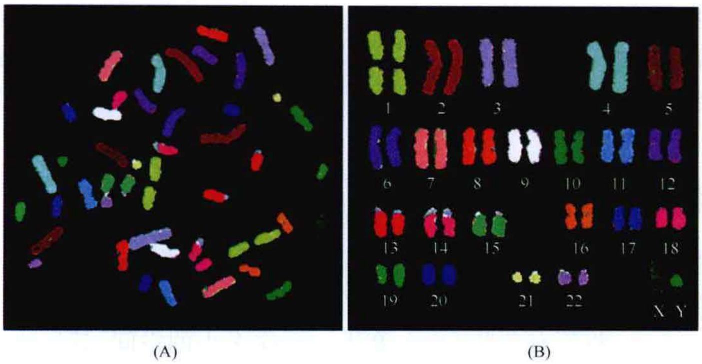


图 5-10　每条人的染色体可以被“涂上”一种不同的颜色，以便清晰地在光学显微镜下分辨。 图中的染色体是从一个正在进行核分裂(有丝分裂)的细胞中分离得到的，因此它们正处于高度致密的状态。染色体的着色标记是把染色体暴露在一套标记了不同荧光染料的人 DNA 分子中完成的。例如，来自 1 号染色体的 DNA 分子用一种特殊的染料标记，来自 2 号染色体的 DNA 分子用另一种染料标记，依此类推。由于被标记的 DNA 只能同它所来源的染色体形成碱基配对或称为杂交，因此每条染色体被标上了不同的标记(在第 10 章中讨论)。该实验中染色体经过处理，双螺旋的 DNA 被解开成两条单链，使染色体在结构相对完整状态下能和标记的单链 DNA 碱基配对。(A)染色体保持在从细胞中裂解出来的初始状态。(B)相同的染色体被人为地按次序排列。在这个被称为*核型*的图中，同源染色体的数量被编号并且成对排列；Y 染色体的存在说明这套 DNA 是从一个男性分离到的。(引自 E. Schröck, et al, *Science* 273: 494-497, 1996。得到 AAAS 的版权许可)

图 5-11　独特的带型可以鉴别每条染色体。 图中 1 到 22 号染色体大致根据长短排列。在每个典型的人体体细胞(非生殖细胞)中，这些染色体都各有两条，另外加上两条性染色体，女性为两条 X 染色体而男性是一条 X 染色体和一条 Y 染色体。这些用来作图的染色体是在有丝分裂的早期在 DNA 非常致密时染色的，但又不像在随后的有丝分裂期那么非常紧密地浓缩。水平红线代表着丝粒的位置，在有丝分裂染色体上它们表现为缢痕；13、14、15、21 和 22 号染色体上的扭结(红色)标明编码大型核糖体 RNA 的基因的位置(在第 7 章中讨论)。这些带型是由吉姆萨染料染色得到的，这种染色剂会在富含 A-T 核苷酸对的区域形成深色带。(摘自 U. Franke, *Cytogenet. Cell Genet*. 31: 24-32, 1981. 得到 S. Karger AG. 的允许)

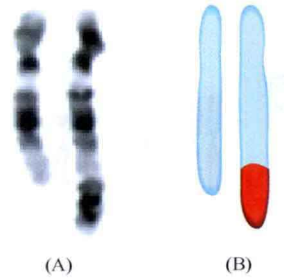


图 5-12 不正常的染色体与一些遗传性缺陷相关。(A)来自患有遗传性共济失调症患者的一对 12 号染色体，这个疾病的特征是运动功能会逐步退化。该患者有一条正常的 12 号染色体(左边)和一条不正常的较长的 12 号染色体。从染色体条带的图案上确定了 12 号染色体上所带有的额外物质是 4 号染色体的一个片段不恰当地被粘在了 12 号染色体上。(B)图中，图(A)中的染色体中相当于 4 号染色体 DNA 的片段被"涂"了红色，相当于 12 号染色体 DNA 的部分被"涂"了蓝色。(来自 E. Schröck 等，*Science* 273：494-497，1996。得到 AAAS 的版权许可)

5.2.2 染色体含有一长串基因

染色体最重要的功能就是携带基因——遗传的功能性单元(图 5-13)。**基因**的定义通常是含有制造特定蛋白质(或者，某些情况下可以是一组密切相关的蛋白质)指令的 DNA 片段。尽管这个定义适用于大多数基因，但是有些基因指导生成 RNA 分子，而并非是以一种蛋白质作为其最终的产物。正如后面章节中所介绍的，和蛋白质类似，这些 RNA 分子在细胞中具有多种多样的结构和催化功能。

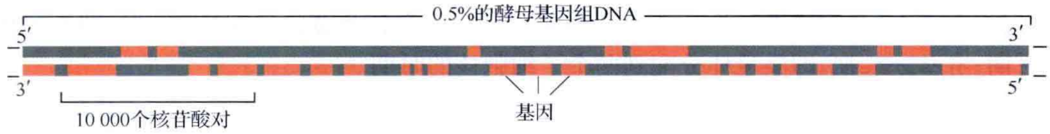


图 5-13 基因沿着染色体排列。此图显示的是芽殖酵母 *S. cerevisiae* 中一条染色体的一小块区域。*S. cerevisiae* 基因组含有大约 6300 个基因——超过 1200 万核苷酸对——分布在 16 条染色体。请注意，对于每个基因来说只有两条 DNA 链中的一条真正编码形成蛋白质或 RNA 分子的信息，正如粉红色条带所示，可以是两条中的任意一条。然而，通常说的基因是指这条链和它的互补链，如图 5-9 所示。基因的高度密集是物种的特征。

可想而知，一个生物体的复杂性与其基因组的数量之间存在着相关性。例如，基因总数范围可以从一个简单的细菌含有不到 500 个基因到人类约有 25 000 个基因。细菌和一些单细胞真核生物有着特别致密的基因组：构成染色体的 DNA 分子就是一串紧密相连的基因。然而，包括人类在内的许多真核生物的染色体除了含有基因，在基因之间，还穿插着额外的 DNA，这些 DNA 似乎不携带任何重要信息。这种 DNA 有时被称为"垃圾 DNA"，因为它们对细胞的作用还没有得到明确证实。虽然这种 DNA 的特定核苷酸序列可能并不重要，但是 DNA 本身——作为间隔物质——可能对物种的长期进化和基因的适当活性至关重要。此外，在比较了许多不同物种的基因组序列后，发现这种额外的 DNA 在相近的物种之间是高度保守的。这也说明了它应该具有一个非常重要的功能——虽然目前我们还不知道这究竟是种什么功能。我们将在第 9 章中对这个问题做详细的阐述。

一般而言，生物体越复杂，它的基因组就越长。但是这种相关性未必总是正确。例如，人类基因组的长度是酵母菌 *S. cerevisiae* 的 200 倍，但它却比有些植物的基因组短 30 倍，比一些阿米巴物种的基因组短 60 倍。此外，不同物种的 DNA 在染色体之间的分配也有所不同。人类有 46 条染色体，但有一个小鹿物种只有 6 条染色体，而某些鲤鱼品种却有 100 条染色体。即使是非常相近的物种，它们的基因组大小非常相似，但染色体的数量和大小也存在很大的差异(图 5-14)。因此，尽管基本上基因的数量与物种的复杂性密切相关，但是基因数量、染色体数量和总基因组的大小三者之间并不存在简单的相关性。经过一段看似随机发生的遗传历史，在选择压力的作用下，现代生物各自形成了自己的基因组和染色体。

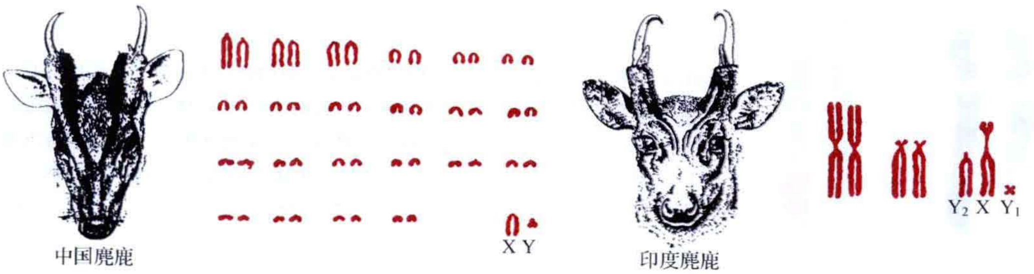


图 5-14 近缘物种的染色体数目的差异很大。最初分开而且在中国品种中仍然保持分开的染色体，在印度麂鹿进化过程中融合在一起。但这对动物并没有产生很大的影响。图中所示的两个品种大致上含有相同数量的基因。(来自 B. K. Hall 和 B. Hallgrimsson, Strickberger 的进化，第四版。Sudbury, M A, 2008. 得到 Jones& Bartlett Publishers 的版权许可)

5.2.3 细胞周期中染色体以不同状态存在

形成一个有功能的染色体，DNA 分子必须做的不只是携带基因：它必须能够复制，在每个细胞分裂时，经过复制的 DNA 必须分开并且准确地分配到子细胞内。这些过程的发生是一系列有序的事件，总起来被称为**细胞周期**。图 5-15 对这个细胞生长和分裂的周期做了简要的概述，我们将在第 18 章中详细讨论。和本章有关的只有两个较为宽泛的时期：间期，即染色体复制的时期；有丝分裂期，即染色体分配到两个子细胞核的时期。

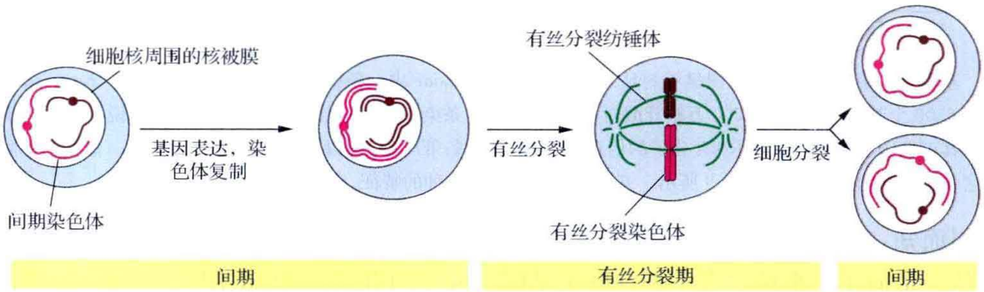


图 5-15 增殖的细胞中，染色体通过一个有序的细胞周期复制和分离。间期，细胞活跃地表达自身的基因。在这阶段的某一期间，DNA 被复制，染色体加倍。一旦 DNA 复制完成，细胞就进入有丝分裂期(M 期)。有丝分裂是细胞核的分裂，这时染色体浓缩，绝大部分基因停止表达，核被核膜破裂，由微管和其他蛋白形成有丝分裂纺锤体。浓缩的染色体被纺锤体牵住，每一套完整的染色体被拉到细胞的一端。核膜围绕每套染色体形成，有丝分裂期的最后一步是细胞分裂产生两个子细胞。为了简单起见，图中只显示了两条不同的染色体。

间期的染色体在细胞核内伸展成又长又细、像丝线一样缠绕在一起的 DNA，这个时期的染色体很难用光学显微镜分辨出来。我们将处在伸展状态的染色体称为间期染色体。在所有真核生物中发现的特殊 DNA 序列保证了间期染色体的高效复制(图 5-16)。有一类核苷酸序列是 DNA 的**复制起始位点**，DNA 复制由此开始。这将在第 6 章中讨论。真核生物的染色体含有许多复制起始位点，以保证整条染色体能快速地复制。另一类 DNA 序列形成位于一条染色体两端的**端粒**。正如我们在第 6 章讨论的，端粒含有重复的核苷酸序列，保证染色体的末端也被复制。它们还可以保护染色体的末端，防止被细胞误认为是一段断裂的需要加以修复的 DNA。

当细胞进入有丝分裂期时，DNA 盘绕在一起，形成越来越紧密的结构，最终形成高度浓缩的有丝分裂染色体。这个时期的染色体最为清晰可见。在这个高度浓缩的状态下，当细胞分裂时，经过复制的染色体很容易分开(图 5-17)。染色体一旦浓缩，第三种特殊的 DNA 序列——着丝粒就会起作用，它保证每一份复制后的染色体拷贝能被分配到每个子细胞中。我们将在第

18 章中讨论细胞分裂时着丝粒的重要作用。

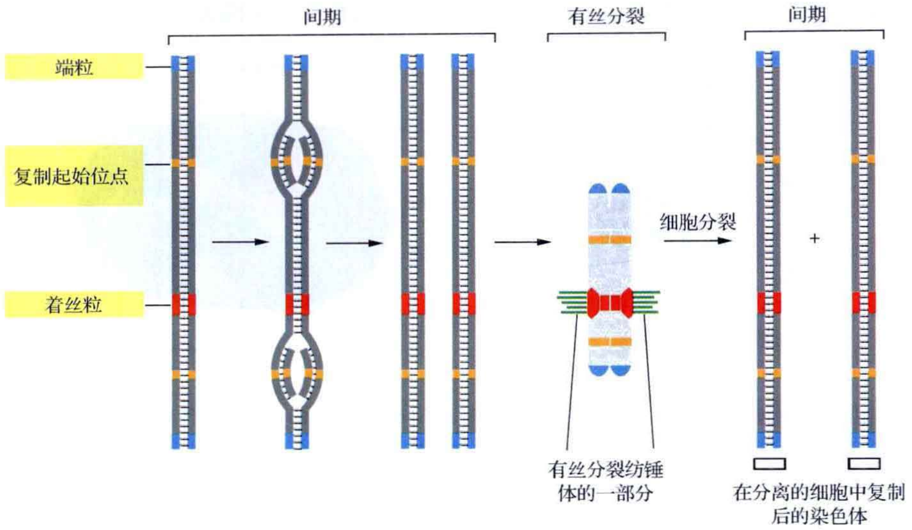


图 5-16 形成一条能复制并在有丝分裂时能分离的真核生物染色体必需的三种 DNA 序列元件。每条染色体有多个复制起始点，一个着丝粒和两个端粒。图中显示的是细胞周期中一条典型染色体上所发生事件的先后次序。DNA 在间期从复制起始点开始复制，从起始点沿着染色体双向进行。在有丝分裂期，着丝粒将复制后的染色体连在有丝分裂纺锤体上，以便在有丝分裂时一份拷贝能被分配到一个子细胞中。着丝粒也有助于复制后的染色体聚在一起，直到它们被拉开。端粒在每个染色体的末端形成特殊的帽子。

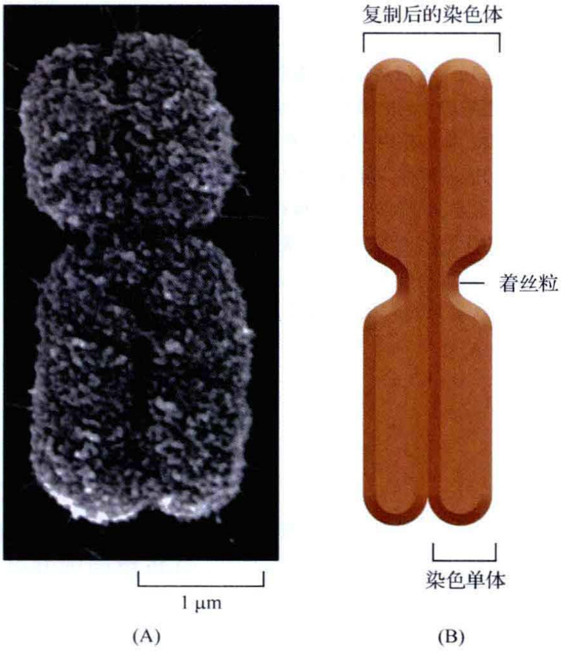


图 5-17 一条典型的高度浓缩的有丝分裂染色体。由于染色体在间期复制，因此每条有丝分裂染色体含有两条相同的姐妹 DNA 分子(图 5-16)。每一条都是长的 DNA 分子，带有与之相关的蛋白质，称为染色单体。(A)有丝分裂染色体的扫描电镜照片。两条染色体紧紧地连接在一起。缢痕区就是着丝粒的位置。(B)一条有丝分裂染色体的示意图。(A 蒙 Terry D. Allen 惠许)

5.2.4 间期染色体是在细胞核内形成的

细胞核周围是由两个同心膜形成的核膜。核膜不时地因核孔的存在而变得通透，活跃地将选定的分子在胞液和细胞核之间运输(在第 15 章中将作详细介绍)。核膜由一个称为核纤层的蛋白纤维网络支撑。该纤维网络形成核膜下的一个薄层和内核膜(在第 17 章中讨论)。

尽管在细胞核内，间期染色体显得比有丝分裂染色体更长更纤细，但它还是有一定的组织

形式。首先，每一条间期染色体各自占据了细胞核一块特定的区域，因而不同的染色体不会相互缠绕在一起(图 5-18)。此外，各染色体上的特定区域还锚定在核膜或核纤层的不同位点上。

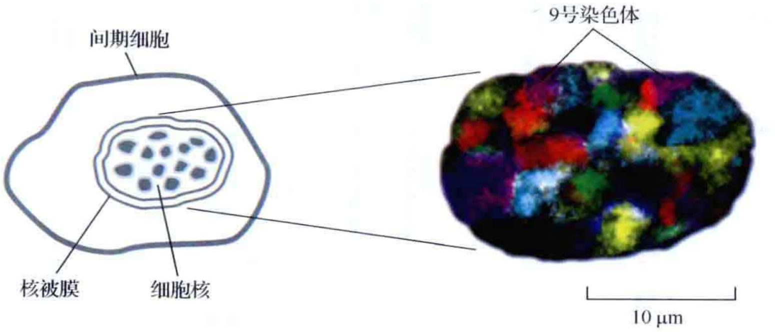


图 5-18 间期染色体在细胞核内占据了不同的领地。利用带着不同荧光标记的 DNA 探针，将人细胞核中每条间期染色体都染上颜色。在荧光显微镜下可以看到，每条间期染色体在细胞核内各自占有属于自己的领地，而不像一碗意大利面那样和其他染色体混在一起。注意在一个双倍体细胞中成对的同源染色体(如图中 9 号染色体的两个拷贝)通常也不处于同一个位置。(来自 M. R. Speicher 和 N. P. Carter, *Nat. Rev. Genet.* 6:782-792, 2005. 得到 Macmillan Publishes Ltd. 允许)

间期细胞核内最明显的染色体形态的例子是核仁(图 5-19)。核仁是不同染色体上为核糖体 RNA(图 5-11 中的红色扭结)运载基因并将其集中在一起的那些部分。这里的核糖体 RNA 细胞内合成并结合蛋白质，从而形成核糖体，即蛋白质合成的机器(在第 7 章中讨论)。

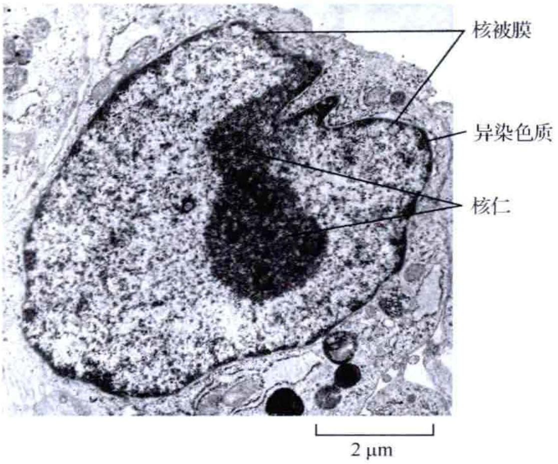


图 5-19 核仁是间期细胞核最显著的结构。人成纤维细胞超薄切片的电镜照片。细胞核被两层膜组成的核被膜包围。细胞核内，染色质形成分散的斑点团，其中特别密集的区域被称为异染色质(深染)。异染色质很少带有基因，主要围绕着外周，在核被膜的下面紧挨着核膜。图中大的深染区是核仁，含有编码核糖体 RAN 的基因；这些基因虽然分布于多条染色体上，但却在核仁内簇拥在一起。(蒙 E. G. Jordan 和 J. McGovern 惠许)

5.2.5 染色体 DNA 是高度浓缩的

正如我们看到的，无论是处于间期还是有丝分裂期，所有的真核生物细胞都将它们的 DNA 紧紧地压缩成染色体。例如，人类 22 号染色体含有大约 4800 万个核苷酸对；向两端伸展开的话，它的 DNA 可以延伸至大约 1.5 cm。然而，在有丝分裂期，22 号染色体的长度仅约 2 μm——这就意味着它几乎要将延伸的状态压缩 10 000 倍。这一不同寻常的压缩技艺是通过蛋白质来完成的，这些蛋白质能将 DNA 螺旋和折叠成越来越高层次的结构。尽管间期染色体的 DNA 没有有丝分裂染色体那么浓缩(图 5-20)，但是它仍以大约 500 倍的比例压缩得很紧密。

在下一部分内容中，我们将介绍这种起压缩作用的特殊蛋白质。但是请记住，染色体的结构是动态的。染色体不仅会随着细胞周期压缩和张弛，而且间期染色体的不同区域必须能被解压缩以便一些特定的 DNA 序列为复制、修复或基因表达所用。因此，染色体的压缩必须非常

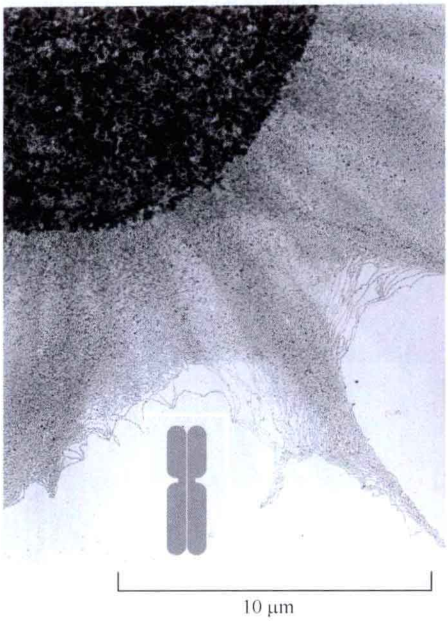


图 5-20 有丝分裂染色体上的 DNA 较间期染色体上的 DNA 更为浓缩。电镜显示的是从一个裂解的间期细胞核中溢出的巨大染色质团(以及与它相关的蛋白质)。为了对比，在同一图片中还以相同放大倍数显示了一条浓缩的人的有丝分裂染色体的略图。(蒙 Victoria Foe 惠许)

灵活，才能快速、局部且应需要而随时将所需 DNA 序列暴露出来。

5.2.6 核小体是染色质结构的基本单位

为形成真核生物染色体而与 DNA 结合的蛋白质，基本上可以分为两种类型：**组蛋白**和非组蛋白的染色体蛋白质。组蛋白的数量相当多(每个细胞中有超过 6 千万个分子分属不同的组蛋白类型)，染色体上组蛋白总的质量大约相当于染色体上 DNA 的质量。这两种类型的蛋白质和细胞核 DNA 复合物一起被称为**染色质**。

1974 年发现组蛋白负责形成染色质的第一级也是最基本层面上的包装——核小体。如果很温和地破碎间期细胞核，然后在电镜下观察，大部分染色质是处于直径约为 30 nm 的纤丝状态(图 5-21A)。如果处理染色质使之部分展开，在电镜下可看到“绳珠”结构(图 5-21B)。绳是 DNA，每个小珠是由 DNA 围绕着由组蛋白形成的蛋白质核而形成的“核小体核心颗粒”。

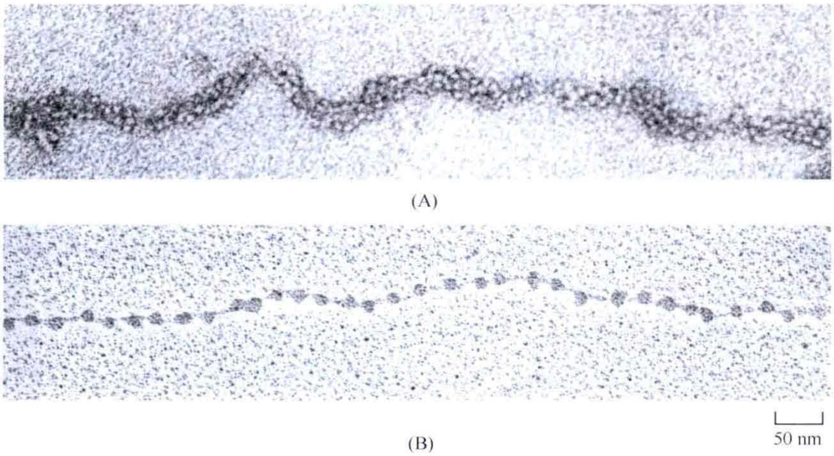


图 5-21 电镜下看到的核小体。(A)直接从间期细胞核中分离的染色质，在显微镜下表现为 30 nm 直径的纤丝；图中所示的是这样一条纤丝的一部分。(B)电镜图显示的是分离出来后再解压缩的一段染色质纤丝，以显示核小体。(A 蒙 Barbara Hamkalo 惠许；B 蒙 Victoria Foe 惠许)

直到利用能够在核苷酸之间切割 DNA 的专一性核酸酶从伸展的染色质中分离到核小体，核小体核心颗粒的结构才被确定。用核酸酶切割较短的时间，可以只降解暴露在核心颗粒之间的 DNA，即连接 DNA。一个核小体核心颗粒是由 8 个组蛋白——H2A、H2B、H3 和 H4 各 2 个分子，和环绕这个组蛋白八聚体、长度为 147 个核苷酸对的双链 DNA 构成的复合物(图 5-22)。1997 年发现了核小体核心颗粒高分辨率的结构，从原子水平揭示了这一由 DNA 以左手螺旋紧密环绕 1.7 周的圆盘形的组蛋白复合物(图 5-23)。

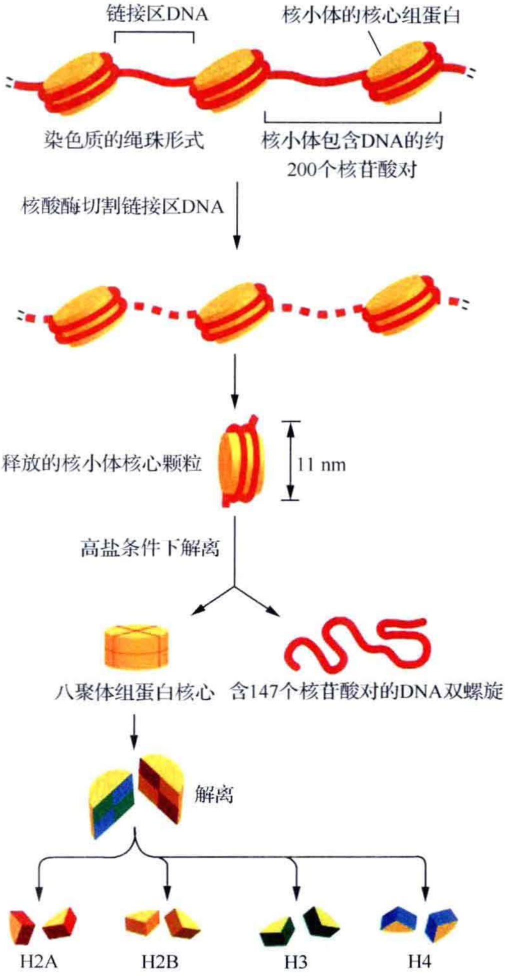


图 5-22　核小体含有环绕一个由八个组蛋白分子组成的蛋白质核心的 DNA。在试管内，连接区 DNA 被核酸酶剪切后，核小体的核心颗粒从染色质中释放出来(核酸酶可以降解暴露的 DNA，但不会切割裹在核小体核心的 DNA)。把分离出来的核小体解离成蛋白质核心和 DNA 后就能确定环绕核心的 DNA 长度。147 个核苷酸对的长度足够在组蛋白核心上环绕大约两圈。

每个核小体核心颗粒之间的连接 DNA 的长度从几个核苷酸碱基对到大约 80 个碱基对不等[严格来说，术语核小体是指核小体核心颗粒加上其相邻的 DNA 连接区(图 5-22)，但通常说的核小体单指核小体核心颗粒]。核小体的形成使 DNA 分子变成约为初始长度 1/3 的染色质丝，并提供了 DNA 包装的第一层次。

构成核小体核心的四种组蛋白是一些相对来说较小的蛋白质，这些小蛋白质所含带正电荷的氨基酸(赖氨酸和精氨酸)的比例很高。这些正电荷帮助组蛋白和带负电的 DNA 核糖-磷酸主链紧密结合。这些大量的正负电荷之间的相互作用在某种程度上解释了为什么任何序列的 DNA 都可以与组蛋白核心结合。每一个组蛋白核心还有一条很长的、从核小体核心颗粒延伸出来的 N 端氨基酸“尾巴”。这些组蛋白尾巴往往带有一些共价修饰，从而多方位的控制染色体结构。

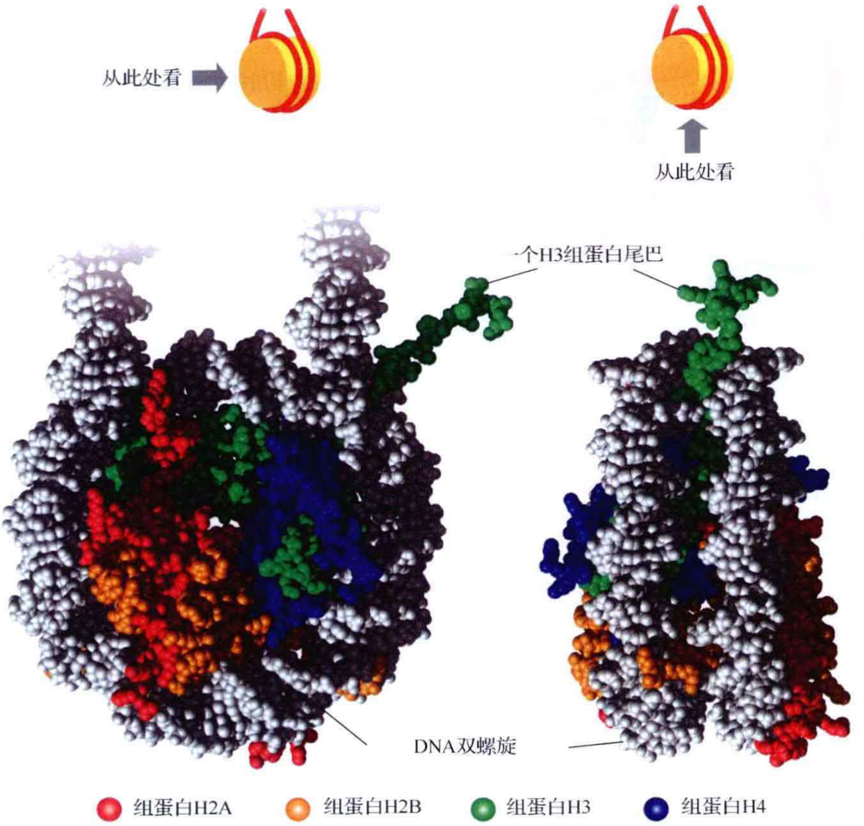


图 5-23 经 X 射线衍射分析确定的核小体核心颗粒的结构，揭示了 DNA 是如何紧密地环绕圆盘形的组蛋白核心的。图中显示了一个核小体两个不同角度的视图。DNA 双螺旋用灰色表示。可以看到一个 H3 组蛋白尾巴(绿色表示)的一部分从核小体中延伸出来。其他组蛋白的尾巴已被截去。(重新印刷蒙 K. Luger 等，*Nature* 389：251-260，1997 的惠许。蒙 Macmillan Publishers Ltd. 的惠许)

组成核小体核心的组蛋白是所有已知的最保守的真核生物蛋白质之一：豌豆和奶牛的组蛋白 H4 只有两个氨基酸的差异。这种进化上的极端保守性反映了组蛋白在控制真核生物染色质结构中具有关键的作用。最近，在古细菌中也发现了组蛋白——在分类上，古细菌是和真核生物及细菌不同的一个门(第 1 章中已讨论过)。

5.2.7 染色体包装有多重层次

虽然大多数染色体 DNA 形成长串的核小体，但是在活细胞中的染色质几乎很少采用如图 5-21 B所见的伸展的绳珠结构。相反，一个个核小体会进一步压缩在一起，形成更紧密的结构——30 nm 纤丝(图 5-21A)。把核小体包装成 30 nm 纤丝依靠第 5 个组蛋白 H1，它被认为把核小体拉到一起，形成有规律的重复排列。这一“连接”组蛋白改变了离开核小体核心的 DNA 的走向，使核小体形成更紧密的结构(图 5-24)。视频 5.2 和图 5-25中说明了 30 nm 纤丝是如何形成的，使我们对染色体包装的各个层次有所了解。

我们知道 30 nm 染色质纤丝还能被进一步压缩。在本章的前面我们看到有丝分裂时染色质可以高度浓缩，以致我们能够在光学显微镜下看到它们。30 nm 纤丝怎样折叠成有丝分裂染色体？答案尚不明确，但推测 30 nm 纤丝是折叠成一系列圆环，这些环进一步压缩形成了间期染色体。最后，一串串的环被认为至少再经历一次压缩，才形成有丝分裂染色体(图 5-26，图 5-25)。

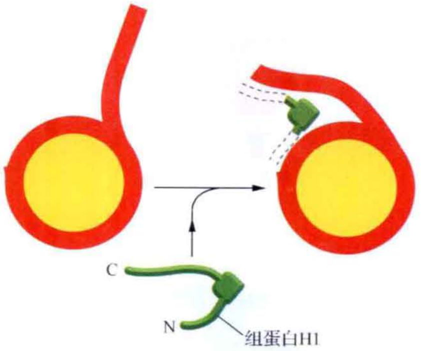


图 5-24　一个起连接作用的组蛋白帮助将核小体拉在一起形成 30 nm 纤丝。组蛋白 H1 由一个球状区域加上其 C 端和 N 端的一对长尾组成。球状区域强行拉动一段不在核心区内的 20 个碱基对的 DNA，这一行为被认为对 30 nm 纤丝的形成非常重要。H1 组蛋白需要它的 C 端长尾巴来结合染色质，但 C 端尾巴的位置以及 N 端尾巴的位置都还未知。

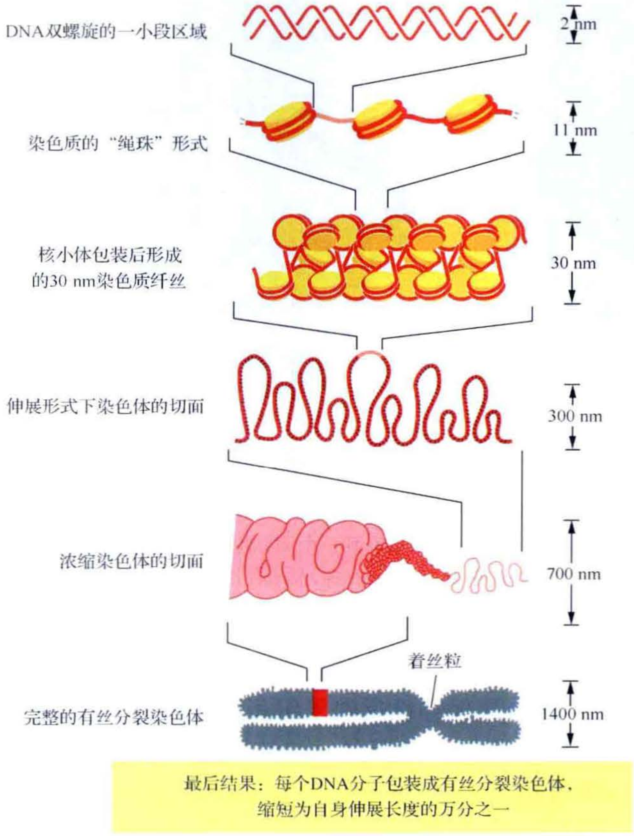


图 5-25　染色体有多层次的 DNA 包装。此示意图显示的是一般认为形成高度浓缩的有丝分裂染色体的不同阶段。

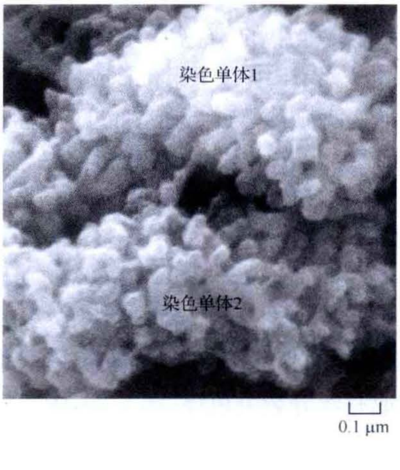


图 5-26　有丝分裂染色体是由紧紧压缩的染色质形成的。这张电镜扫描照片显示的是一条典型的有丝分裂染色体末端附近的区域。每个结状突起被认为代表单个环状染色质的顶端。染色体已经过复制，但两条新的染色体（称为染色单体）仍连在一起（图 5-17）。照片的右边可以区分出两条染色体的末端。（引自 M. P. Marsden 和 U. K. Laemmli，*Cell* 17：849-858，1989。蒙 Elsevier 的惠许）

5.3 染色体结构的调节

到目前为止，我们已经讨论了 DNA 是如何被仔细地压缩成染色质的。现在我们谈谈这种包装是如何达到动态的效果，从而在需要时将里面的 DNA 暴露出来。细胞中的 DNA 携带着大量编码的信息，而细胞必须能够在需要的时候得到这些所需的信息。

在这部分内容中，我们将讨论细胞是如何改变它的染色质结构，暴露出局部的 DNA 区域，使主要与基因表达、DNA 复制及修复有关的专一性蛋白质能够接近它。接着，我们讨论染色质结构是如何建立和维持的——细胞是如何将这种结构以某些形式传递给后代的。染色质结构的调节和遗传在真核生物的发育和生长中起着重要的作用。

5.3.1 染色体结构的改变使蛋白质可以接触 DNA

真核生物的细胞有多种方式来快速调节其染色质的局部结构。其中一种方式是利用**染色质重塑复合物**——一个利用水解 ATP 的能量来改变 DNA 环绕核小体位置的蛋白质机器。它沿着 DNA 移动，推动 DNA 使之松动与组蛋白的结合，从而使细胞中的其他蛋白质更易于与其接触（图 5-27）。在有丝分裂时，至少部分染色质重塑复合物是失活的，这样可帮助有丝分裂染色体维持其紧密包装的结构。

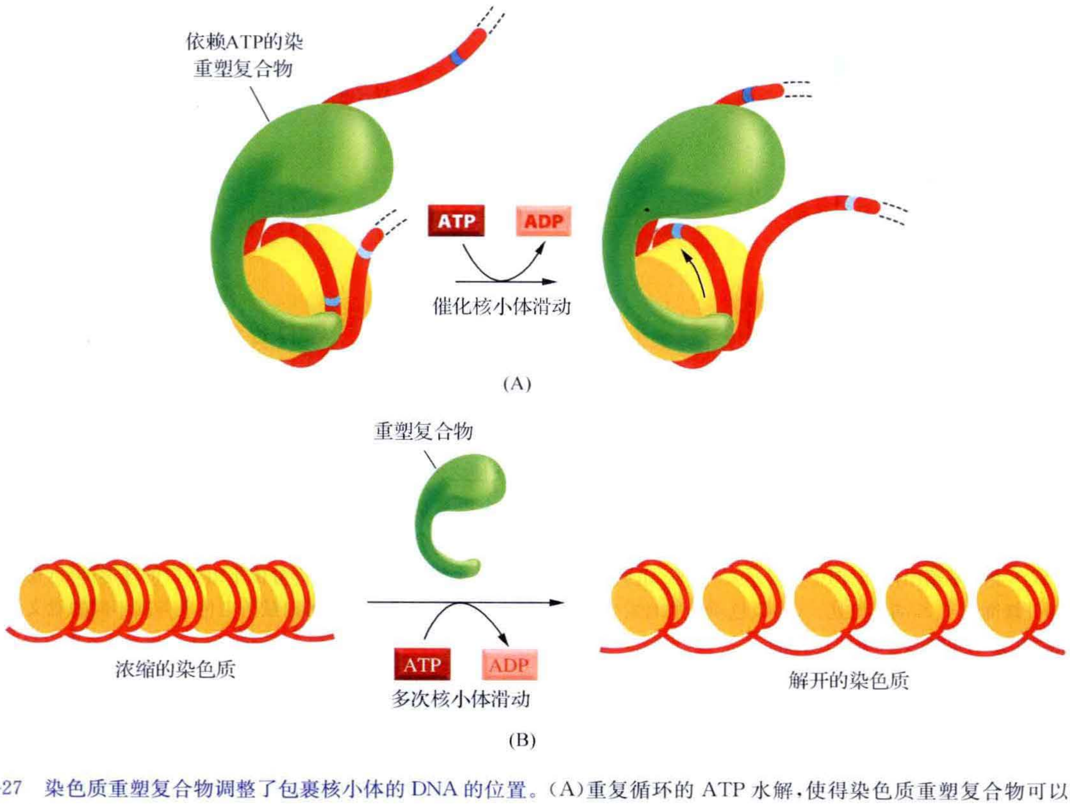


图 5-27 染色质重塑复合物调整了包裹核小体的 DNA 的位置。(A) 重复循环的 ATP 水解，使得染色质重塑复合物可以沿着组蛋白核心推动核小体 DNA 而使其松动。这就调整了（滑动了）核小体的位置，将 DNA 暴露给其他 DNA 结合蛋白。此图中，核小体已沿着 DNA 往左略微有所移动。产生这一变化需要 ATP 水解的多次循环。(B) 核小体多次滑动能解松染色质，使细胞内的其他蛋白质能触及其中的 DNA。相反地，其他形式的滑动则会使染色质在一个特定的染色体区域浓缩。

另一种改变染色质结构的方式有赖于组蛋白的可逆的化学修饰。四种核心组蛋白的尾巴主要受这种共价修饰的支配。例如，乙酰基、磷酸基或甲基基团可以被位于细胞核内的酶添加

到已组装的核小体上，也可以从核小体上移除。虽然组蛋白尾巴的这种修饰对于维持单个核小体的稳定并没有直接的作用，但对于维持前文讨论过的 30 nm 染色质纤丝和一些高级结构的稳定性却似乎有着直接的影响。

最重要的是，这些修饰影响了组蛋白尾巴与特殊蛋白质结合的能力，从而将它们招募到染色质特定的伸展处。不同形式的组蛋白尾巴修饰会招募不同的蛋白质，有些蛋白质引起染色质的进一步浓缩，而有些蛋白质则通过解开染色质为开通接近 DNA 的通道提供便利。不同组合的组蛋白尾巴修饰以及与之结合的蛋白质对细胞有着不同的含义，例如，一种模式可能代表特定的一片染色质伸展区是刚刚完成复制，而另一种模式可能提示那片染色质区里的基因将要发生表达（图 5-28）。

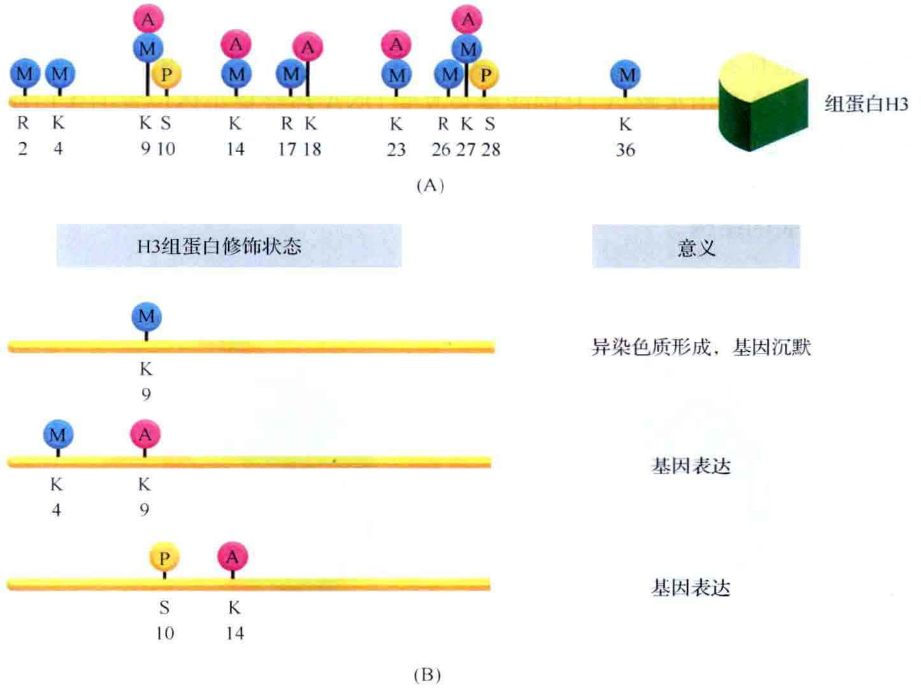


图 5-28 组蛋白尾巴修饰的模式可以解释细胞是如何处理染色质使之伸展的。（A）每一个组蛋白可通过共价连接不同的化学基团而被修饰。例如，组蛋白 H3 接受一个乙酰基基团（A），一个甲基基团（M）或一个磷酸基团（P）。数字代表了在蛋白质链上被修饰的氨基酸的位置。注意，有些位置（如赖氨酸 9、14、23 和 27）可以以多种方式修饰。此外，赖氨酸可以被 1 个、2 个或 3 个甲基基团修饰（图中未显示）。注意，组蛋白 H3 含有 135 个氨基酸，其中大部分位于组蛋白的球形部分（楔子），而大部分修饰位于 N 端尾巴处。（B）染色质伸展时发生的不同组合的组蛋白尾巴修饰可以赋予染色质伸展不同的意义。目前这些“意义”中仅有一部分是已知的。

像染色质重塑复合物一样，修饰组蛋白尾巴的酶是被严格调控的。它们被其他的信号带到染色质的特定区域——主要是通过那些能与 DNA 特定序列结合的蛋白质相互作用（这些蛋白质我们将在第 8 章中讨论）。组蛋白修饰酶与染色质重塑复合物互相配合，压缩和解开染色质伸展区域，允许局部的染色质结构根据细胞的需要做出快速的改变。

5.3.2 间期染色体同时含有浓缩的和伸展的染色质形态

对间期染色体的大体结构来说，通过重塑复合物和组蛋白修饰对染色质局部的改变具有重要的作用。这些染色体中的染色质包装程度是均一的。含有表达基因的染色体区域基本上比较伸展，而含有静息基因的染色体区域则比较浓缩。因此，一条间期染色体的详细结构随细胞

类型而异，借此可确定哪些基因在此表达。

间期染色质最浓缩的形式称为**异染色质**（来源于希腊语 *heteros*，“不同的”，其后加上染色质），20 世纪 30 年代在光学显微镜下首次观察到在染色质区域中存在独特的强染色区域。一般说来，异染色质占间期染色体的 10%。在哺乳动物染色体中，异染色质分布于着丝粒附近和染色体两端的端粒。最普遍的异染色质的形成是由一套特定的组蛋白尾巴修饰所诱导的，包括组蛋白 H3 中赖氨酸残基 9 的甲基化（图 5-28）。这些修饰吸引了一套异染色质特异的蛋白质，然后再由这些蛋白质诱导邻近的核小体内相同的组蛋白尾巴修饰。新的尾巴修饰继续招募同一套异染色质特异蛋白质，使得染色质浓缩像扩散的波浪一样沿着染色体传播。用这种方式，一整片异染色质区被建立起来。

大多数永久性包埋在细胞异染色质内的 DNA 是不含基因的。由于异染色质高度压缩，因此被错误包装到异染色质中的基因通常是无法表达的（图 5-29）。基因在异染色质内这种不恰当的包装会导致疾病：人类编码 β-珠蛋白的基因——参与形成携带氧气的血红素分子——就位于浓缩染色质的邻近区域。如果由于一个遗传性的 DNA 缺失，异染色质扩散到该区域，β-珠蛋白基因就会表达量很低从而使人得一种很严重的贫血症。

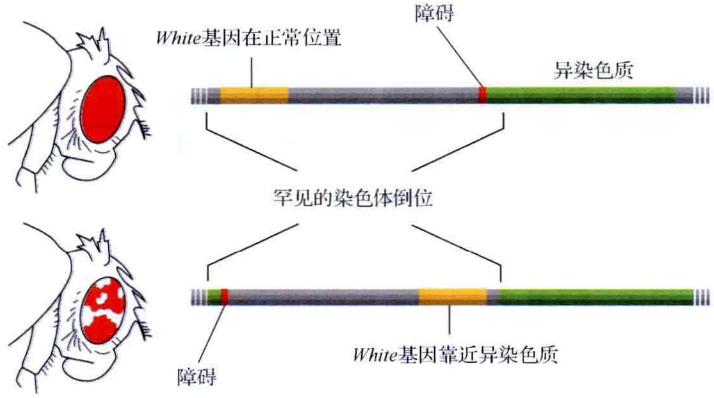


图 5-29　一个基因的表达可以因其被移动到基因组的另一个位置而发生改变。此图显示的是位置效应的一个例子，基因的活性有赖于它在染色体上的位置。果蝇 *Drosophila* 的 *White* 基因控制眼睛中色素的产生，是首次鉴定该基因时因其突变体而命名的。带有一个正常 *White* 基因（$White^{+}$）的野生型果蝇能正常地产生色素，因此果蝇是红眼。但是如果 *White* 基因突变失活，突变果蝇（$White^{-}$）就不能产生色素，因此是白眼。在野生型果蝇中，*White* 基因（图中用黄色显示）位于最近的离异染色质（绿色所示）有一定的距离。一段特殊的障碍序列（红色所示）阻止了异染色质伸展到染色体邻近的区域。在斑点眼果蝇中，该染色体的一段区域反向排列，导致正常的 $White^{+}$ 基因距离异染色质很近，并替代了使这段障碍序列移位，结果果蝇的眼睛就变成同时带有红斑和白斑的杂色。白斑代表 $White^{+}$ 基因由于异染色质的影响而失活的细胞；红斑则说明这些细胞表达 $White^{+}$ 基因，因为在发育早期，这一斑块中细胞的祖细胞里，异染色质的扩散尚未越过 *White* 基因。大片红色和白色细胞的存在，说明基因的状态（无论是激活的还是沉默的），是建立在发育早期并会遗传给后代细胞。

利用异染色质保持基因完全关闭或沉默的最令人惊奇的例子，是在雌性哺乳动物的间期 X 染色体中发现的。雌性细胞有两条 X 染色体，雄性细胞有一条 X 染色体和一条 Y 染色体。由于双倍剂量的 X 染色体产物是致死的，所以雌性哺乳动物的每个细胞中两条 X 染色体中总有一条是永久性地失活。在胚胎发育的早期，每个细胞中两条 X 染色体中有一条随机地高度浓缩成为异染色质。此后，这条 X 染色体的浓缩和失活状态就遗传给这个细胞的所有后代（图 5-30）。

其余的间期染色质称为**常染色质**（来源于希腊语 *eu*，“真实的”或“正常的”，其后加上染色质）。虽然我们使用常染色质这一术语来指比异染色质更为伸展的染色质，但是现在很清楚的是，无论是常染色质还是异染色质，它们都是由具有不同染色质结构的复合物组成，都是通过由

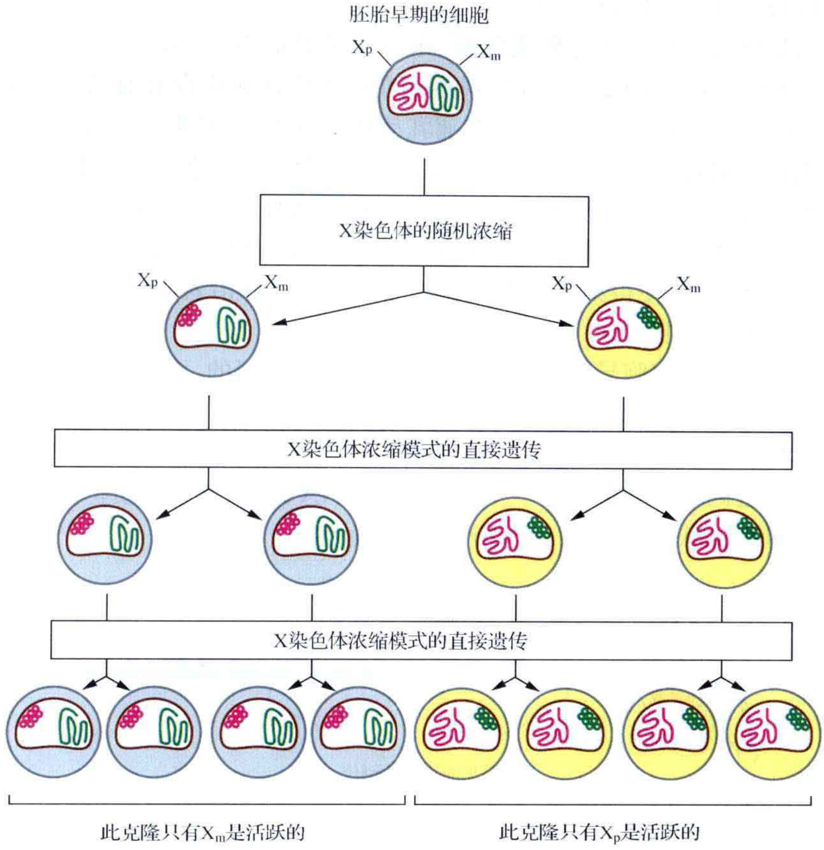


图 5-30 **异染色质的形成使一条 X 染色体失活。** 雌性哺乳动物胚胎早期，每个细胞含有两条 X 染色体，一条来自母方（X_m），另一条来自父方（X_p）。在发育早期，这两条染色体中的一条显然是随机地被压缩成异染色质。此后，每次细胞分裂时，这个原始细胞的所有子细胞中该染色体被压缩。小鼠 X 染色体失活发生在胚胎发育的第三天到第六天之间。同样，人体 X 染色体失活也发生在胚胎发育早期，在细胞尚未决定任何特定的分化途径之前。因此，所有的雌性哺乳动物最终成为拥有来自母方或父方失活 X 染色体的嵌合体。在它们身上的大部分组织和器官中，大约有一半的细胞是一种类型，而另一半是另一种类型。

招募远距离的非组蛋白进行不同的组蛋白尾巴修饰而建立和维持的（图 5-31）。

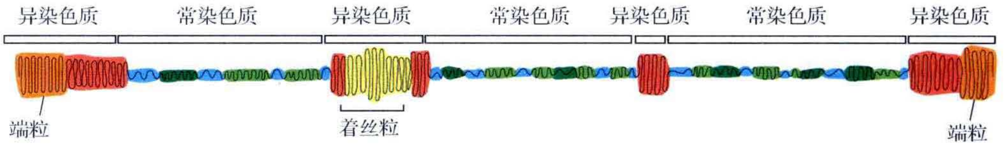


图 5-31 **在一条间期染色体上，染色质的结构有所变化。** 如图中用不同颜色所表示的，异染色质和常染色质各代表了伸展或压缩程度不同的染色质结构。异染色质比常染色质更加压缩。

5.3.3 染色质结构的改变是可以遗传的

如前所述，有些类型的染色质结构是可以从一个细胞传递到它的后代的，例如，子细胞内来自母亲 X 染色体的一个拷贝是浓缩且失活的，那么它所有后代中来自母亲的这条 X 染色体都是浓缩且失活的。染色质结构的这种遗传性是如何实现的？当一个细胞复制它的基因组时，每条子 DNA 双螺旋接受了它的父母的组蛋白的一半。这些组蛋白带有与某种染色质结构类型

特异性相关的共价修饰，而那些特异的染色质结构则存在于其父母染色体特定的区域。因此，每条子染色体最初含有两套混合的核小体类型：含有遗传自父母染色体的修饰过的组蛋白，和含有尚未被修饰的新合成的组蛋白。此处，蛋白质识别修饰过的组蛋白后会与父母的组蛋白相结合，并在附近的新合成组蛋白上加上相同的修饰，重新建立在父母细胞内已有的染色质结构模式（图 5-32）。

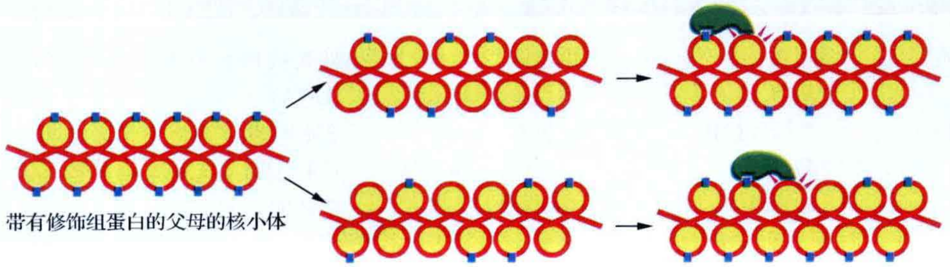


图 5-32 组蛋白修饰是如何遗传给子染色体的。当一条染色体复制时，染色体上的组蛋白或多或少地随机分配给两条子 DNA 双螺旋的每一条。因此，每条子染色体将得到其父母的修饰过的组蛋白的大约一半。剩下的伸展的 DNA 将接收新合成、尚未经修饰的组蛋白。这样，能够识别某种特殊修饰的蛋白质可以与染色质结合，催化在新组蛋白上形成同样的修饰。如此可以重建父母的修饰模式，最终遗传了父母染色质的结构。这一机制看来已经适用于部分组蛋白修饰，但显然还不适合所有类型。

传递局部染色质结构的能力帮助真核生物细胞“记住”一个基因在其父母细胞中是否活化，这对于一个复杂的多细胞生物体在发育和生长期间，建立和维持不同类型的细胞、组织和器官至关重要。这种遗传的类型并不涉及将特殊的 DNA 序列从一代细胞传到下一代细胞，却与传递经过特殊修饰的组蛋白相关。这是**基因外遗传**（epigenetic inheritance，*epi* 来源于希腊语“上面”）的一个例子，因为这是叠加在以 DNA 为基础的基因遗传之上的。其他形式的表观遗传将在第 8 章中讨论。

基本概念

- 生命依赖于稳定且紧凑地储存的遗传信息。
- 遗传信息由长的 DNA 分子携带，由核苷酸 A、T、G 和 C 的线性序列编码。
- 每个 DNA 分子是一个双螺旋，由一对互补的核苷酸链组成，由 G-C 和 A-T 碱基配对的氢键维系在一起。
- 真核细胞的遗传物质包含在一套染色体内，每条染色体是一条含有许多个基因的非常长的 DNA 分子。
- 当编码蛋白质的基因表达时，部分核苷酸序列被转录为 RNA，然后引导合成特定的蛋白质。形成每条真核生物染色体的 DNA 除了含有基因以外，还有许多复制起始点、一个着丝粒和两个端粒。这些序列确保了染色体可以有效地复制并传递给子细胞。
- 真核细胞中的染色体由 DNA 和大量与之牢固结合的专一性蛋白质所构成。这些蛋白质把 DNA 折叠成一种紧密的形式。染色体上的 DNA 和蛋白质的复合物称为染色质。
- 数量最多的染色体蛋白质是组蛋白，它将 DNA 包在一个由被称为核小体的 DNA-蛋白质颗粒所组成的重复阵列中。
- 在组蛋白 H1 分子的帮助下，核小体包装在一起形成 30 nm 纤丝。纤丝通常盘绕和折叠，形成更紧密的染色质结构。
- 染色体的结构是动态的：利用染色质重塑复合物和共价修饰组蛋白的酶，临时解压缩染色体的结构，细胞可

以确保涉及基因表达、复制和修复的蛋白质得以快速、局部地与相应的DNA序列接触。

- 有些染色质用一种组蛋白尾巴修饰的模式，使得DNA高度浓缩，以至于包装着的基因无法表达产生RNA和蛋白质。
- 染色质结构可以从一代细胞传递到下一代细胞，形成表观遗传的一种形式，帮助细胞记住在上一代细胞中的基因表达状态。

关键词

常染色质	互补	染色体	脱氧核糖核苷酸	组蛋白
端粒	基因	染色体组型	(DNA)	
复制起始点	基因外遗传	染色质	细胞周期	
核仁	基因组	染色质重塑复合物	异染色质	
核小体	碱基对	双螺旋	着丝粒	

问题

问题 5-1 下列陈述中哪一句是正确的？请解释。

一条DNA链是有极性的，因为DNA链的一端的电荷比另一端高。

G-C碱基对比A-T碱基对更稳定。

问题 5-2 DNA双螺旋中，相邻的核苷酸对之间相距0.34 nm。如果把人体1号染色体解开使之伸展，用图5-11估算1号染色体的DNA长度。如果有丝分裂时1号染色体的实际长度是大约10 μm，那么这种状态下的DNA的压缩程度如何？

问题 5-3 假设组蛋白八聚体形成一个直径为9 nm、高度为5 nm的圆柱体，而人类基因组有3200万个核小体，那么组蛋白八聚体占据核仁（直径为6 μm）的体积是多少？[圆柱体的体积是 $\pi r^2 h$；球体的体积是 $(4/3)\pi r^3$。] 组蛋白八聚体占了细胞核总体积的多少？与人类DNA占细胞核的体积相比又如何？

问题 5-4 真核生物的组蛋白是最保守的蛋白质。例如，豌豆和牛的组蛋白H4的102个氨基酸中，只存在2个氨基酸的差异。虽然比对它们的基因序列后发现存在很多差异，但是只有其中的两个改变了它们编码的氨基酸。这些观察说明了针对氨基酸改变的突变必然是不被选择的。你为什么认为在组蛋白基因上改变氨基酸的这种突变是有害的？

问题 5-5 X染色体上的一个特定基因突变导致色盲，所有携带这个突变基因的男性均为色盲。携带一个突变基因的大部分女性有正常的色觉，但在看彩色图像时分辨率降低，似乎有功能的锥体细胞（含有色彩光受体的细胞）在视网膜上相隔的距离大于正常人。你能给这种现象作一个合理的解释吗？如果一个女性是色盲，那么你认为她父亲是怎样的？她的母亲又怎样呢？请说明原因。

问题 5-6 A. 一个DNA双螺旋中一条DNA链的核苷酸序列为5′-GGATTTTTGTCCACAATCA-3′。它的互补链的序列是什么？

B. 某种细菌细胞的DNA中，13%的核苷酸是腺苷酸，其他核苷酸的百分比是多少？

C. 一段DNA的长度是 N 个核苷酸，它会有多少种可能的核苷酸序列？如果是(a)单链DNA；(b)双链DNA。

D. 假设你有某种方法可在一些特定的核苷酸序列处切割DNA。为了要在 3×10^6 核苷酸对的细菌基因组上只有一个切割处，问这个特定的核苷酸序列的长度该有多少个核苷酸（平均数）？如果改用 3×10^9 核苷酸对的动物细胞基因组，又该有多长？

问题 5-7 一个A-T碱基对仅由两个氢键维持。具有相似强度的氢键作用力也能在其他碱基组合中发生，如图Q5-7中所示的A-C和A-G配对。如果在DNA复制时形成了这样的配对并且掺入了不正确的碱基，将产生什么后果？解释为什么这种现象并不经常发生？（提示：见图5-6）

问题 5-8 A. 假设分离到地球外来源的一种大分子，表面上与DNA十分相似，但进一步分析表明碱基结

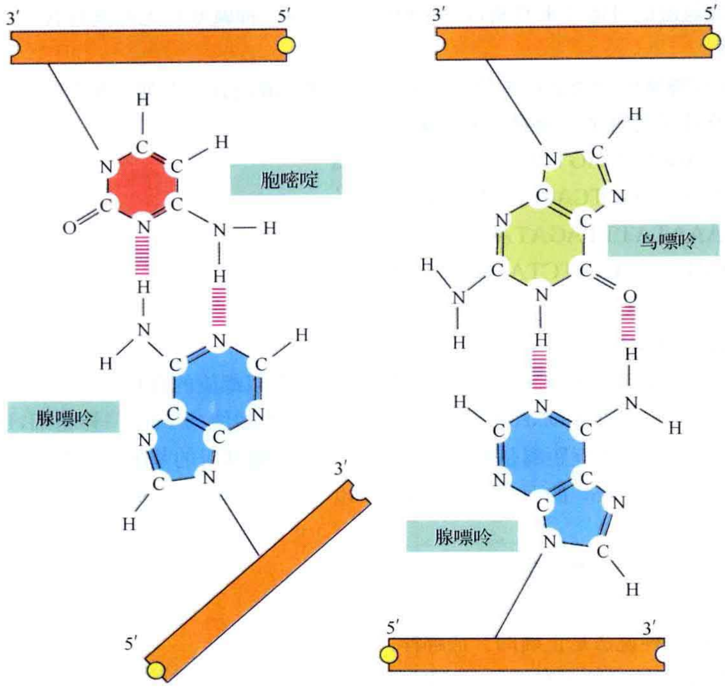


图 Q5-7

构十分不同(图 Q5-8)。碱基 V、W、X 和 Y 代替了 A、T、G 和 C 碱基。仔细观察这些结构,这种 DNA 样的分子有无可能来自一种运用与地球上细胞相似的遗传学原理的生命体?如果是,你能说出它的哪一些属性?

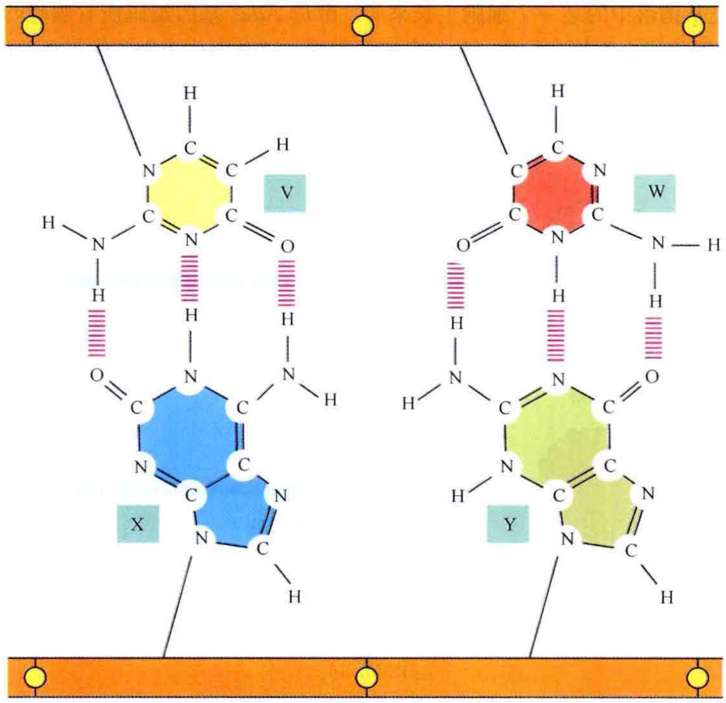


图 Q5-8

B. 单从它们生成氢键的可能性来判断，这些地球外的任何一种碱基有无可能替代地球 DNA 中的 A、C、G 或 T？解释你的答案。

问题 5-9 DNA 双螺旋的两条链经加热会分开。在一种溶液内含有下列三种 DNA 分子，如果你升高溶液温度，它们“解链”的次序是怎样的？解释你的答案。

A. 5′-GCGGGCCAGCCCGAGTGGGTAGCCCAGG-3′

3′-CGCCCGGTCGGGCTCACCCATCGGGTCC-5′

B. 5′ATTATAAAATATTTAGATACTATATTTACAA-3′

3′-TAATATTTTATAAATCTATGATATAAATGTT-5′

C. 5′-AGAGCTAGATCGAT-3′

3′-TCTCGATCTAGCTA-5′

问题 5-10 一个人体基因组的 DNA 总长度约为 1 m，DNA 双螺旋的直径约为 2 nm，DNA 双螺旋内的核苷酸之间的间隔为 0.34 nm。如果 DNA 被放大，其直径与一条电缆线(5 mm)一样粗细，这条电缆线将会有多长(假设完全展开)？碱基间的相互距离是多少？一段含 1000 个碱基对的基因会有多长？

问题 5-11 一张光盘在 9 cm^2 的面积上储存 4.8×10^9 个字节的信息。这种信息以二进制方式存放，也就是说，每个字节是 0 或 1。

A. 指定 DNA 序列上的一个核苷酸需要多少字节？

B. 储存人基因组的信息需要几张光盘？

问题 5-12 下列哪一种说法是正确的？请解释。

A. 每条真核生物染色体必须含有下列 DNA 序列元件：多个复制起始位点、两个端粒和一个着丝粒。

B. 核小体核心颗粒直径为 30 nm，如果拉直可形成 30 nm 细丝。

问题 5-13 给出下列术语的定义以及它们之间的相互关系：间期染色体，有丝分裂染色体，染色质，异染色质，组蛋白，核小体。

问题 5-14 仔细考虑图 Q5-14 的结果。图中所示两个菌落中的任何一个都是大约 10 万个酵母细胞的集落，而所有的细胞都是从菌落中的某一个细胞生长来的。酵母 *Ade2* 基因编码所有腺嘌呤生物合成酶中的其中一种，缺失 *Ade2* 基因编码产物将会导致一种红色素的积累。该基因位于染色体正常的位置时，*Ade2* 基因在所有细胞中都表达。但当它位于高度浓缩的端粒附近时，*Ade2* 基因将不再表达。请解释为什么在靠近菌落的边缘会形成白色扇形。基于这些扇形的存在，关于从母细胞到子细胞传递 *Ade2* 基因的转录状态，你能得出什么结论？

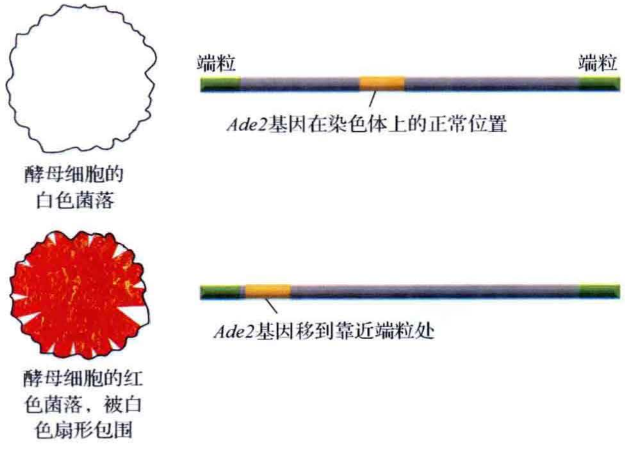
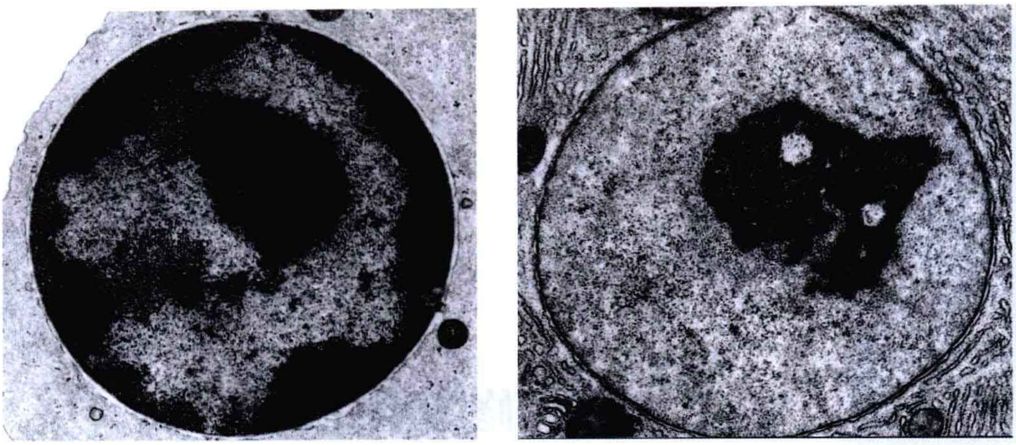


图 Q5-14

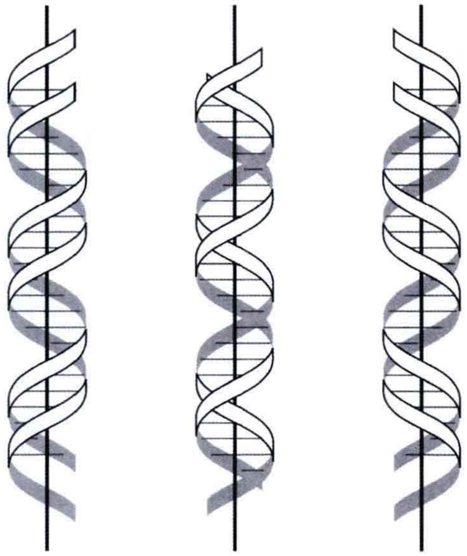
问题 5-15 图 Q5-15 的两张电镜显微照片显示了两种不同细胞类型的细胞核。你能从这两张照片中指出哪一个细胞正在转录更多的基因吗？请解释你怎样得出这个答案的。(显微镜照片蒙 Don W. Fawcett 惠许)



(A)　　(B)

图 Q5-15

问题 5-16　DNA 形成一个右手螺旋。请从图 Q5-16 中找出右手螺旋。



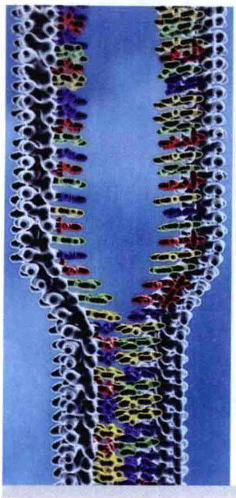
(A)　　(B)　　(C)

图 Q5-16

问题 5-17　一条单独的染色体的直径是 11 nm，含有 147 个 DNA 碱基对(DNA 双螺旋估测为 0.34 nm/bp)。由 DNA 环绕组蛋白八聚体得出包装的比率(DNA 长度与核小体直径的比率)是多少？假设两个组蛋白之间的连接区有一段额外的 53 bp 的伸展的 DNA，那么相对于完全伸展的 DNA 来说，“绳珠”结构的 DNA 压缩程度如何，是这第一层次的压缩占有丝分裂时发生的 10 000 倍压缩的几分之几？

问题 5-18　染色质结构的表观遗传被认为在脊椎动物中对决定不同类型细胞的特化具有重要的作用。相对于胚胎发育期间在特定的细胞内的特殊 DNA 位点上改变 DNA 序列的假设机制来说，为什么这种从细胞到细胞的遗传机制更可取？

(顾婷玉　译)



6 DNA 复制、修复和重组

6.1 DNA 复制
6.2 DNA 修复
6.3 同源重组
6.4 可移动的遗传因子和病毒

细胞在混乱的环境中维持其正常状态的能力有赖于对其 DNA 携带的大量遗传信息进行精确的复制。这一复制过程——称为 DNA 复制，发生在细胞产生两个遗传上相同的子细胞之前。细胞维持其正常状态还需要不断地监视和修复其遗传信息，因为 DNA 受到来自环境中化学品、辐射以及那些在细胞内产生的活性分子的损害。在本章中，我们对复制和修复细胞内 DNA 的蛋白质机器进行描述。这些机器催化一些发生在细胞内最快最精确的反应，这些行为反映了细胞化学的精致和效率。

虽然这些系统可以保护遗传指令以防止复制错误和偶然的损害，但是永久性的改变，或突变，有时仍会发生。尽管很多突变不会以任何明显的方式影响生物体，但是有些突变还是会对生物体产生深远的影响。这些改变偶尔会对生物体有益，例如，突变可以使细菌对用来杀死它们的抗体产生抗性。的确，上百万年积累的 DNA 变化，提供了遗传物质的多样化，这使得一个物种明显区别于另一个。这部分内容将在第 9 章中讨论。突变也会引起同一物种的个体之间产生较小的变化，我们很容易从人类和其他动物中看到这种变化(图 6-1)。

图 6-1 遗传信息忠实地从一代传递到下一代。然而，DNA 的区别能产生变异，这些变异是引起同一物种不同个体间差异的原因——或者，随着时间推移，也是引起一个物种与另一个物种间产生差异的原因。在这张家庭照片里，和其他人相比，孩子之间以及他们与父母之间长得比较相像，这是因为他们从父母那里遗传了某些特定基因。猫与人有许多相似的特点，但在与人分化后数百万年的进化过程中，猫与人都积累了许多遗传性变化，使得两者很不一样。至于鸡，亲缘关系就更远了。

然而，突变也是有害的，它导致了上千种人类遗传疾病和多种类型的癌症。因此，细胞或生物体的生存有赖于将其 DNA 的变化保持在最小水平。没有持续监视和修复 DNA 损害的细胞系统，生命是否可能存在就值得怀疑了。

本章我们先回顾负责使 DNA 复制和维持过程保持最小变化的机制。接着我们探讨一些精巧的改变遗传信息的方式，包括同源重组以及我们染色体上被称为可移动的遗传元素的特殊 DNA 序列。最后，我们来看病毒——由一层蛋白质外壳保护的基因——它可以在不同细胞之间进出。

6.1 DNA 复制

每个细胞分裂时，细胞必须极其精确地复制它的基因组。在这部分内容中，我们探究细胞是如何实现这一奇迹，尤其是 DNA 复制的速率还高达每秒 1000 个核苷酸。

6.1.1 碱基配对使 DNA 得以复制

在前面的章节中，我们看到 DNA 双螺旋的每条链包含的核苷酸序列恰好与其对应链互补。因此，每条链可作为合成新的互补链的**模板**(图 6-2)。换句话说，如果我们命名 DNA 的两条链为 S 和 S′，S 链可作为新合成的 S′链的模板，而 S′可以成为新合成的链的模板(图 6-3)。这样，经过一个极为简单的过程，S 和 S′链相分离，每条分开的链成为合成新的互补对应链的模板，新合成的链与模板原来的对应链完全相同，储存于 DNA 分子内的遗传信息从而得以精确复制。

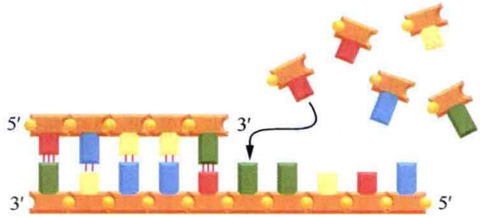


图 6-2 作为模板的一条 DNA 链。能够与模板形成碱基配对的核苷酸(A 和 T，G 和 C)将优先结合。这使得每条链能作为合成其互补链的模板。

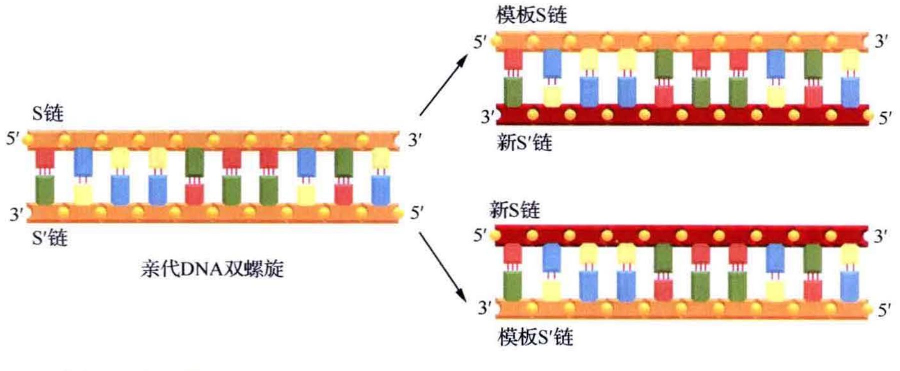


图 6-3 DNA 是其自身复制的模板。因为成功的配对只发生于 A 与 T、G 与 C 之间，双螺旋的每条 DNA 链——这里用 S 链标示，其互补链用 S′标示——可以作为一条模板指定其互补链的核苷酸序列。这样，双螺旋 DNA 可以被精确地拷贝。记住，虽然这里用不同的颜色显示，但是模板链(橘色)和新的链(红色)在化学上是相同的。

DNA 分子的每条链都能作为产生新的互补链的模板，使细胞能在将其基因传递给后代前将基因拷贝，即复制。但这一任务是十分艰巨的，因为每次细胞分裂时，它必须复制数以十亿计的碱基对。复制必须快速而精确地进行：一个正在分裂的动物细胞必须在大约 8 h 内，复制约

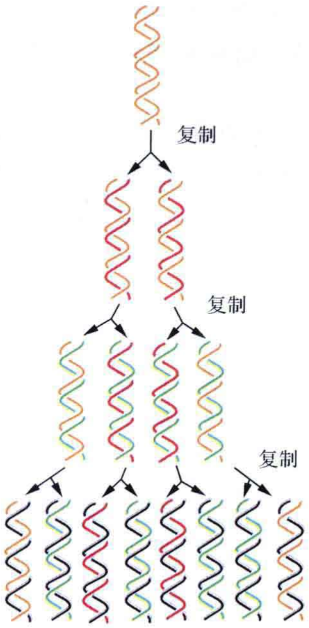


图 6-4 在每轮 DNA 复制过程中，DNA 分子的每条链均被用作合成其互补链的模板。因此，初始的两条链在经历多次细胞传代后仍保持完整。DNA 复制是“半保留”的，因为子代 DNA 双螺旋由一条亲代链与一条新合成的链组成。

1000 本像本书那么多的内容，而且就平均而言，出错不能多于 1 或 2 个字母。这一奇迹是由一组蛋白质组成的“复制机器”完成的。

DNA 复制就是从原来的 DNA 分子产生两个完整的双螺旋，每个新的 DNA 螺旋在碱基序列上与亲代 DNA 双螺旋一样（罕见的差错除外）（图 6-3）。因为每条亲链是一条新合成链的模板，所以每个子代 DNA 双螺旋分子由一条旧链和一条完全新合成的链组成。这种复制称为半保留复制（图 6-4）。在“我们如何得知”这一节，我们首次讨论证明 DNA 是以此方式复制的实验。

6.1.2 DNA 合成从复制起始位点开始

通常，DNA 双螺旋是很稳定的：碱基间形成的大量氢键将两条 DNA 链紧紧地锁合在一起（图 5-2）。这样，只有接近沸水的温度才能提供足够的热能分离这些链。然而作为模板，双螺旋又必须首先使两条链分离以暴露出未配对的碱基。在活细胞内的温度下，这是如何发生的呢？

DNA 复制由起始蛋白质启动，它们结合于 DNA，撬开两条链，断开碱基间的氢键（图 6-5）。尽管大量氢键的共同作用使得 DNA 螺旋非常稳定，但单个氢键的作用力还是较弱的（第 2 章）。因此，使一小段 DNA 双链分开并不需要很多能量输入，在蛋白质的协作下，这一过程可以在常温下进行。

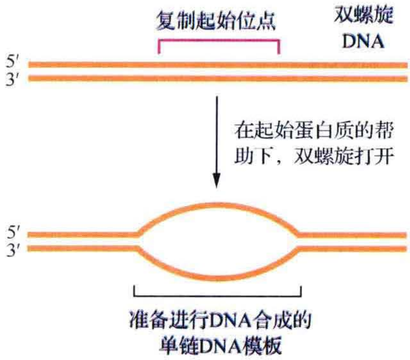


图 6-5 DNA 双螺旋在复制起始位点处打开。复制起始蛋白质识别复制起始位点的 DNA 序列，在局部撬开双螺旋的两条链。暴露的单链可作为拷贝 DNA 的模板。

DNA 最初被打开的位点称为**复制起始位点**，它们通常是一些特殊的核苷酸序列。在细菌或酵母这样的简单细胞内，复制起始位点通常占据约 100 个碱基对，它们由易于结合起始因子的 DNA 序列以及特别容易打开的 DNA 片段组成。在第 5 章中我们可看到，相对于 G-C 碱基对，A-T 碱基对由较少的氢键连接。因此，富含 A-T 碱基对的 DNA 较容易打开，因而在复制起始位点也经常能发现富含 A-T 的 DNA 片段。

一个细菌的基因组通常是一个含有数百万个碱基对的环状分子，有一个复制起始位点。人基因组要大许多，大约有 1 万个复制起始位点。在人体内，DNA 复制在多个位点上同时开始，

大大缩短了一个细胞复制其全部基因组所需的时间。

当一个起始蛋白质结合于复制起始位点的 DNA 并且局部打开双链后，它就会吸引一组蛋白质进行 DNA 复制。这些蛋白质形成一个蛋白质机器，其中的每一个蛋白质执行特定的功能。我们将首先概述 DNA 复制的过程，然后再简要介绍这些蛋白质。

我们如何得知：复制的性质

1953 年，James Watson 和 Francis Crick 发表了一篇著名的论文，该论文只有 2 页，描述了 DNA 结构的模型(图 5-2)。他们假设了互补碱基——腺嘌呤和胸腺嘧啶，鸟嘌呤和胞嘧啶——它们彼此沿着双螺旋的中心配对，把两条 DNA 链啮合在一起。在这篇简洁的科学重磅炸弹的最后，这两位研究者从一个几乎是旁观者的角度评论道："值得我们注意的是，我们假定的特定配对方式立刻为我们提示了一种遗传物质可能的复制机制。"

的确，在这篇经典的论文发表在 *Nature* 杂志后的一个月，Watson 和 Crick 就发表了第二篇文章，提出了 DNA 可能是怎样复制的。在这篇文章里，他们假设双螺旋的两条链解旋，每一个都作为合成互补子链的模板。他们的模型被称为半保留复制，每个新的 DNA 分子含有一条来自亲本分子的链和一条新合成的链(图 6-6A)。

虽然现在我们知道 Watson 和 Crick 关于 DNA 复制的模型是正确的，但是在当时这并没有马上被全世界接受。令人尊敬的物理学家出身的遗传学家 Max Delbrück 就是其中之一，他困在了所谓的"非解旋问题"(the untwiddling problem)里：双螺旋的两条链沿着彼此盘绕相当长的距离那么多次，它们是如何做到没有一团糟地搅乱在一起？Delbrück 认为，Watson 和 Crick 的 DNA 螺旋以一条拉链式的模式打开的概念似乎在物理上是不太可能的，简直就是"太愚笨所以没有效率"。

Delbrück 假设，DNA 复制通过一系列断裂和重新结合来进行，在此过程中，DNA 骨架先被断开，复制许多短片段——可能每次只有 10 个核苷酸，再重新连接到一起。这个模型后来被称为色散，由此产生的拷贝将是新老 DNA 拼凑在一起的集合，每条链所含的是两者的混合物(图 6-6B)。这里不需要解螺旋。

然而，第三个阵营提出了 DNA 复制可能是全保留的想法：亲本的螺旋在复制之后不知何故保留了其完整性，而子代分子则含有两条全新的 DNA 链(图 6-6C)。为了确定哪个模型是正确的，就需要进行一个实验——这个实验应该能够揭示新合成的 DNA 链的组成。Matt Meselson 和 Frank Stahl 就在此刻登场。

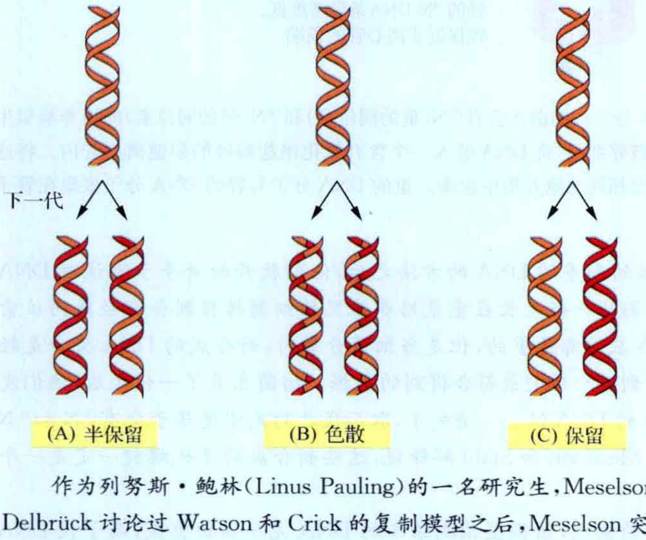


图 6-6 DNA 复制的三种模型作出了不同的预测。(A)在半保留模型中，每条亲本链作为合成一条新的子代链的模板。复制的第一轮产生两个杂合的分子，每个分子除了含有一条新合成的链外，还含有一条来自原亲本的链。接下来的一轮复制会产生两个杂合的分子以及两个均不含原亲本 DNA 的分子。(B)在色散模型中，每次产生的子代 DNA 是由来自亲本链的片段组成的和新合成物质。(C)在保留模型中，亲本的分子复制后仍保持完整。在这一过程中，复制的第一轮产生原亲本双螺旋和一条完全新的子代分子。在每个模型中，亲本 DNA 分子用橘色表示；新复制的 DNA 用红色表示。需说明的是，每个模型在这里只展示一小段 DNA 片段。

作为列努斯·鲍林(Linus Pauling)的一名研究生，Meselson 一直想建立能区别新旧蛋白质的方法。在与 Delbrück 讨论过 Watson 和 Crick 的复制模型之后，Meselson 突然发现他为探索蛋白质合成所设想的方法可能对研究 DNA 也起作用。1954 年夏天，Meselson 遇到了 Stahl，那时他是纽约罗切斯特大学的研究生。他同意与 Meselson 一起合作。他们花了好几年才让每一个实验步骤正常运转，但最终这两人完成了众所周知的"最美的生物实验"。

现在回想起来，他们的方法是令人吃惊地直截了当。他们从培养两批大肠杆菌开始，一批培养在含有重同位素^{15}N的培养基里，另一批则培养在含有正常的、较轻的^{14}N培养基里。在营养培养基里，氮会掺入核苷酸碱基，这就是它进入生物体DNA的途径。让细菌分别在含有^{15}N或是^{14}N的培养基里生长许多代之后，他们就得到了两瓶细菌，一瓶DNA是重的，另一瓶DNA则是轻的。然后，Meselson和Stahl将细菌的细胞破碎，并将DNA加入到含有高浓度氯化铯盐的管子里。离心这些管子时，氯化铯会形成一个密度梯度，DNA分子会浮或沉在溶液里，直到它们到达与周围的盐的密度相同的位置(图版4-4)。利用这种称为等密度梯度离心的方法，Meselson和Stahl发现，通过观察DNA在氯化铯梯度中的位置，他们就能区分重的(含有^{15}N)DNA和轻(含有^{14}N)DNA。因为重的DNA比轻的DNA稠密得多，所以它聚集在离离心管底部较近的位置(图6-7)。

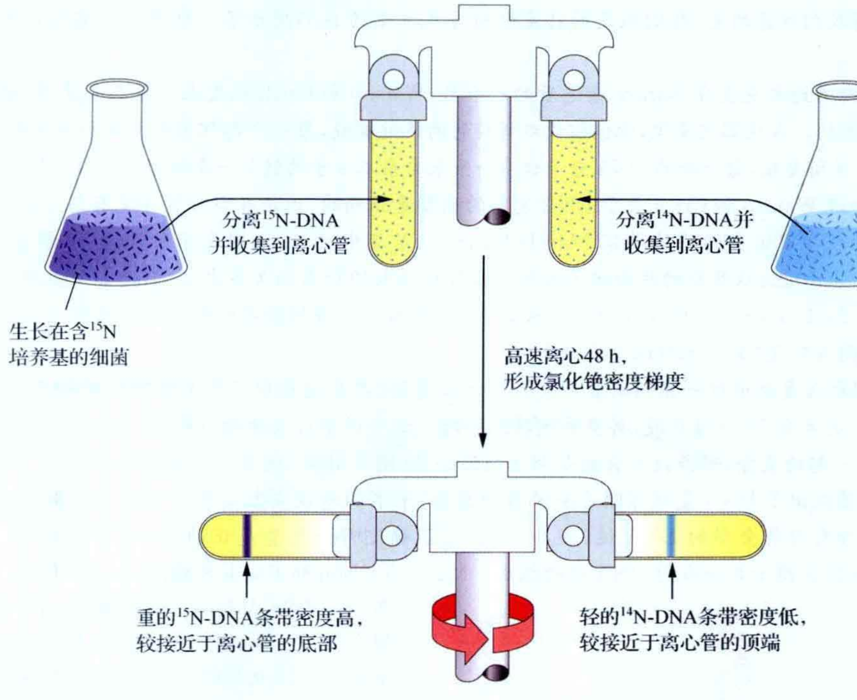


图6-7 在梯度氯化铯中离心可将重DNA和轻DNA分开。细菌在含有^{15}N(重的同位素)和^{14}N(轻的同位素)的培养基里生长了多代后，它们的DNA就标记上了同位素。然后破碎细胞，将DNA装入一个含有氯化铯盐溶液的超速离心管内。将这些管子高速离心两天，使得DNA在与其周围的盐密度相同的地方集中起来。重的DNA分子与轻的DNA分子聚集在管子的不同位置。

一旦Meselson和Stahl建立了这种区分轻的和重的DNA的方法之后，他们就开始着手于测试对DNA复制提出的多种假说。为了进行这一测试，他们将一瓶生长在重氮培养基里的细菌转移到含有轻氮同位素的培养基里。实验刚开始的时候，所有的DNA应该都是重的，但是当细菌分裂时，新合成的DNA将会是轻的。然后，他们就能监视轻DNA的积累，并看到哪个模型最符合得到的数据。细菌生长了一代之后，他们发现亲本，即重的DNA分子——由两条含有^{15}N的DNA链——消失了，取而代之的是密度居于含有^{15}N和^{14}N的DNA分子中间的一类新的DNA(图6-8)。Meselson和Stahl解释说，这些新合成的子代螺旋一定是一个混合体——既含有重同位素，也含有轻同位素。

这一观察立刻排除了DNA复制时全保留的模型，该模型预测亲本的DNA完全保留重氮，而子代DNA则是100%轻的(图6-6C)。Meselson和Stahl的数据与半保留模型相吻合，该模型预测形成的杂合分子含有一条重DNA和一条轻DNA链(图6-6A)。而且，这些结果也同样与色散模型相一致，该模型中杂合分子含有重DNA和轻DNA的混合物(图6-6B)。

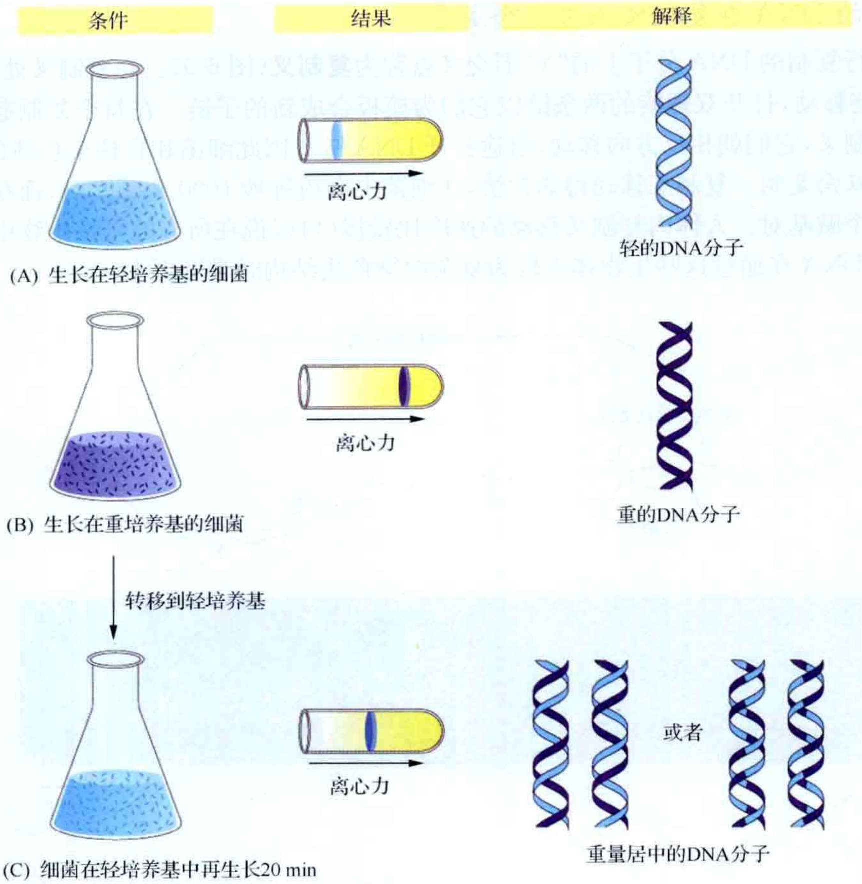


图 6-8　Meselson 和 Stahl 实验的第一部分排除了 DNA 复制的保留模型。(A)生长在轻培养基(含^{14}N)的细菌产生的 DNA 在离心管的较高处密集成一条条带，而生长在含有^{15}N的重培养基(B)的细菌产生的 DNA 带则迁移到更靠近离心管底部的地方。当生长在重培养基中的细菌转移到轻培养基并让它继续分裂，它们就能产生一条位于两条亲本条带中间的某个位置的条带(C)。这些结果排除了 DNA 复制的保留模式，但是无法将半保留和色散模式区分开，这两种都预测了杂合的子代 DNA 分子的形成。

事实上，从结果来看非常明显——新复制的杂合 DNA 分子在预期的位置形成独立的条带——这是实验流程中一个可喜的意外发现。研究者是用一个皮下注射器将细菌的 DNA 样品加载到超速离心管中的(图 6-7)。在这个过程中，他们没有意识到已将大的细菌染色体断裂成较小的片段。如果染色体仍是完整的话，实验者很可能将部分复制的 DNA 提取出来，因为很多细胞可能正处于复制阶段中。处于这种复制中间阶段的分子不可能分离形成独立的条带。正由于研究者用了较短的片段进行研究，所以所有的片段都已完全复制——含有一条完整的亲本链和子代链的可能性是很高的，因而得到了漂亮和清晰的结果。

为了区分后面两种模型，Meselson 和 Stahl 调高了实验温度。DNA 在高温下，连接两条链的氢键就会被打断，螺旋就会散开，留下一堆单链的 DNA。当 Meselson 和 Stahl 在离心前加热杂合的分子，他们发现 DNA 的一条链是重的，另一条链是轻的。这一观察进一步支持了半保留模型；如果色散模型是正确的，由此产生的每条链是含有重片段和轻片段的混合集合，它们将一起聚集在中间密度处。

根据历史学家 Frederic Lawrence Holmes 所述，这一实验是如此优美，这一结果是如此清晰，以至于当 Stahl 在耶鲁大学应聘一个职位时，他都用不完分配给他作报告的 50 min。Stahl 说：“我 25 min 就讲完了，因为他们就要我讲那个实验，而实验又是那么简单并且完整。”Stahl 并没有在耶鲁得到那份工作，但是这个实验说服了生物学家们，那就是 Watson 和 Crick 是正确的。事实上，这些结果被迅速地广泛接受，以至于在 Meselson和 Stahl 发表这一数据之前，有本教科书就已经对该实验进行了描述。

6.1.3 新的 DNA 在复制叉上进行合成

正在进行复制的 DNA 分子上的"Y"形交叉点称为**复制叉**(图 6-9)。在复制叉处,复制机器沿着 DNA 链移动,打开双螺旋的两条链以它们为模板合成新的子链。在每个复制起始位点处形成两个复制叉,它们朝相反方向移动,沿途打开 DNA 链。因此细菌和真核染色体的 DNA 复制叉被称为双向复制。复制叉移动得非常快,在细菌中大约每秒 1000 个碱基对,而在人体内大约每秒 100 个碱基对。人体内复制叉移动的速度比较慢(可以说在所有的真核生物中),可能是由于复制的 DNA 在通过这些生物体内较为复杂的染色质结构时难度更大。

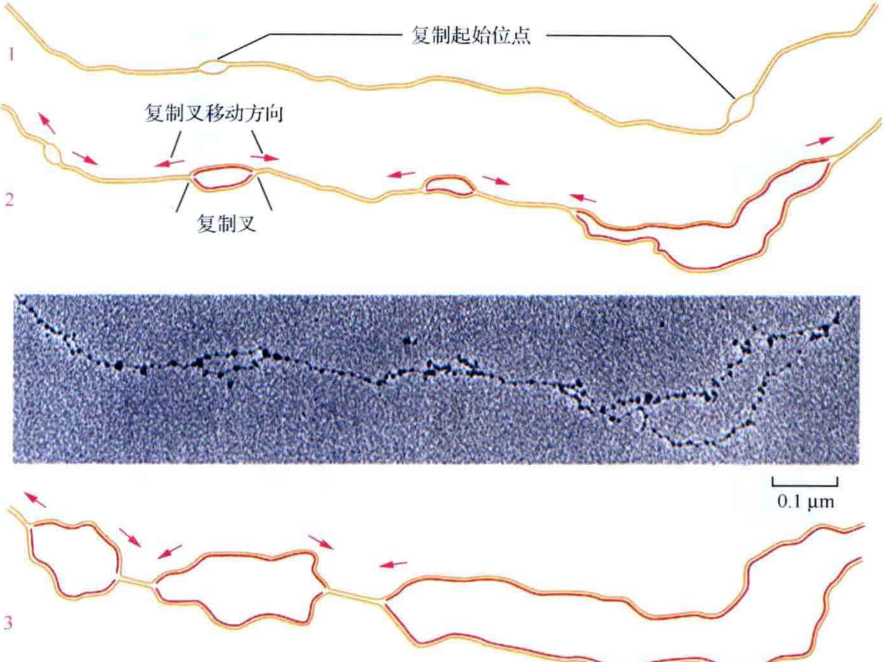


图 6-9 在真核细胞的染色体上,复制叉由多处复制起始位点向相反方向移动。电镜照片显示了早期果蝇胚胎中正在复制的 DNA。沿着 DNA 的可见颗粒是核小体,这是由 DNA 盘绕蛋白质复合物组成的结构(见第 5 章)。(1)、(2)、(3)为同一段 DNA 分子的示意图,它们分别由电镜照片绘制,表示了 DNA 分子在连续的复制阶段外观上的变化。本图中展示了(2)的原始电镜照片。橘线表示亲代 DNA,红线表示新合成的 DNA。(电镜照片蒙 Victoria Foe 惠许)

复制机器的核心是 **DNA 聚合酶**,它用原来的 DNA 链作为模板来合成新的 DNA。这种酶催化核苷酸掺入正在延长的 DNA 链的 3′端,新掺入的核苷酸的 5′磷酸基和增长链的 3′端之间形成磷酸二酯键(图 6-10)。核苷酸最初以核苷三磷酸的形式参与反应,它提供了多聚反应所需要的能量。核苷三磷酸的一个高能量键水解产生一个焦磷酸(PPi),释放的能量引发了被用于连接核苷酸单体和增长链的缩合反应。DNA 聚合酶将能量的释放与多聚反应偶联起来。焦磷酸随后被水解成无机磷酸(Pi),这使得多聚反应成为一个不可逆的过程(图 3-41)。

在每次添加一个核苷酸到新增长链之后,DNA 聚合酶并不从 DNA 链上解离;在多聚反应过程中,DNA 聚合酶始终和 DNA 分子结合在一起并沿着模板链一步步向前移动。视频 6.1 展示了一个正在移动的 DNA 聚合酶分子。在本章稍后部分,我们将看到有一个特殊的蛋白质使聚合酶始终与 DNA 结合在一起,同时这种蛋白质重复地将新的核苷酸添加到延伸中的链上。

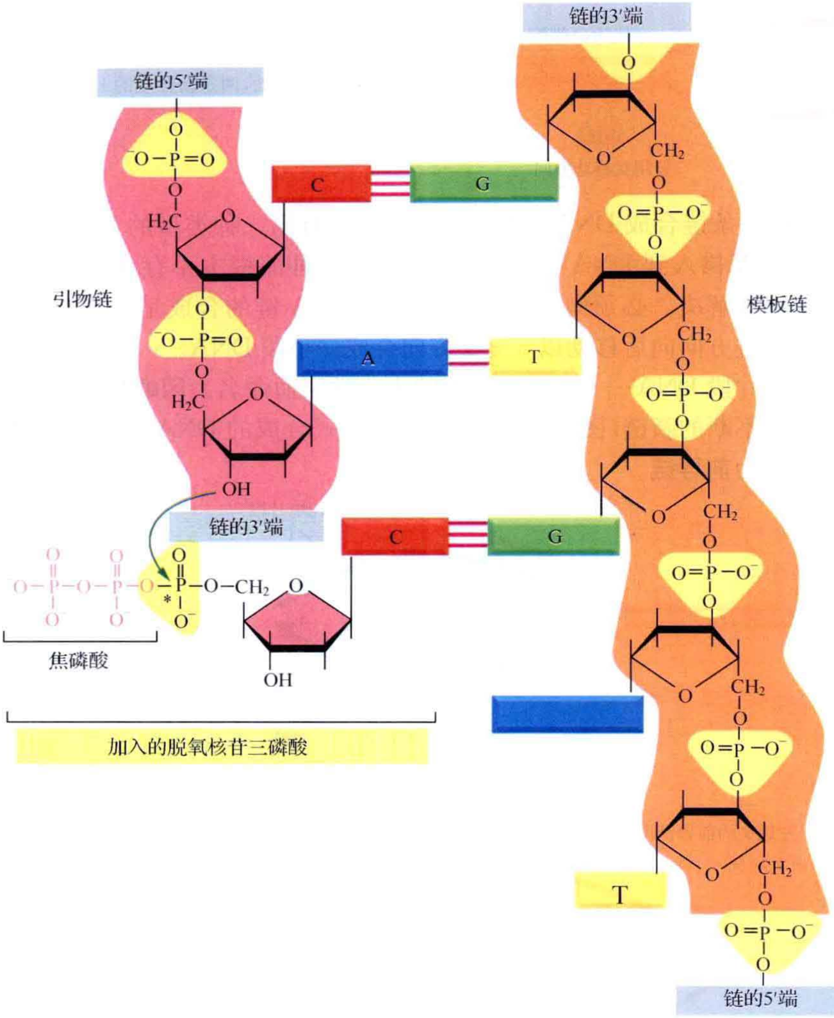


图 6-10　DNA 沿着 5′→3′方向合成。 DNA 合成过程中的基本反应是一个脱氧核糖核苷酸掺入到一条多聚核苷酸的 3′羟基端，因此新的 DNA 链的合成是从 5′→3′方向进行的。核苷酸是以核苷三磷酸的形式进入反应。进入的脱氧核苷酸与模板链的碱基配对指导新的 DNA 链的形成，它与模板链在核苷酸序列上是互补的（图 6-2）。DNA 聚合酶催化核苷酸掺入到位于增长的 DNA 链上自由的 3′羟基。参加反应的核苷三磷酸的磷酸酐键（由星号标示）断裂释放大量自由能，提供了聚合反应所需的能量。

6.1.4　复制叉是不对称的

5′→3′的 DNA 聚合机制在复制叉处遇到一个问题。在图 5-2 我们看到 DNA 双螺旋中每条链的糖-磷酸主链有特定的化学方向，或称极性，这种极性由每个糖基与下一个糖基的连接方式决定，而双螺旋中两条链的极性是相反的。在复制叉上，这就产生了这样一种结果：一条新的 DNA 链在一个走向（5′→3′）的模板上合成，而另一条新链在相反走向（3′→5′）的模板上合成（图 6-11），因此，复制叉是不对称的。乍看，两条新合成的链看来都朝同一方向即复制叉移动的方向延伸。因此从表面上看，这似乎暗示一条链是由 3′→5′方向合成，而另一条链是从 5′→3′方向合成的。

但是，DNA 聚合酶只能催化 DNA 链朝一个方向延伸，即只能把新的亚基掺入到链的 3′端（图 6-10）。因此，催化新的 DNA 链合成只能是从 5′→3′方向。这就能解释为何在复制叉处两

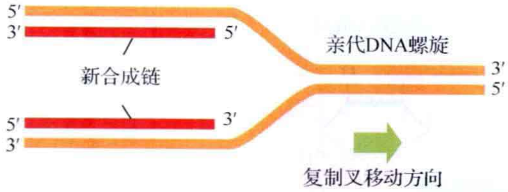


图 6-11　在复制叉处，两条新合成的DNA链的极性是相反的。

条 DNA 链中只有一条链合成 DNA。人们也许会猜测有第二种类型的 DNA 聚合酶合成另一条 DNA 链，它把亚基掺入到 DNA 链的 5′端。然而，这种酶根本不存在。这个问题利用一种“回针缝合”方式得以解决。必须向 5′端延伸的那条 DNA 链的合成是非连续的，DNA 聚合酶相对于复制叉的前进方向向后移动以 5′→3′方向合成一小段 DNA。

由此产生的小片段 DNA——因发现它们的生化学家而命名为**冈崎片段**——然后被连接在一起形成一条连续不断的新链(图 6-12)。以非连续方式合成的 DNA 链称为**后随链**，而以连续方式合成的链则称为**前导链**。

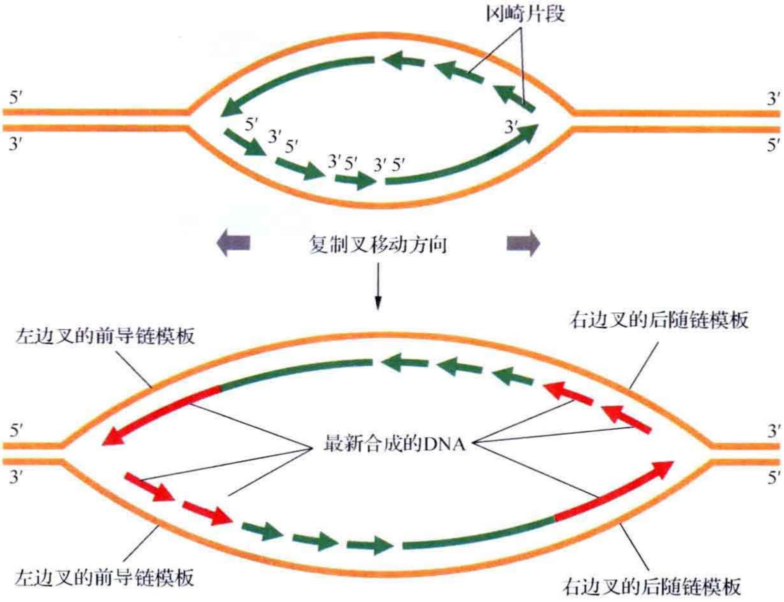


图 6-12　复制叉是不对称的。因为两条新的链都是以 5′→3′方向合成，DNA 的后随链的合成首先是产生一系列短的 DNA 链，随后它们被连接在一起。上图显示两个向相反方向移动的复制叉，下图显示经过一小段时间后的相同的复制叉。为了合成后随链，DNA 聚合酶必须“回针缝合”：它首先以 5′→3′方向合成短的片段(冈崎片段)，然后在合成下一个片段之前必须沿着模板链向相反方向移动(朝向复制叉)。

尽管在细节上有微小的差别，在所有细胞中，无论是原核细胞还是真核细胞，复制叉都有前导链和后随链。这一共同特性源于这个事实：所有用来复制 DNA 的 DNA 聚合酶都只能催化 5′→3′方向的多聚反应。这种看似复杂的分子机制的重要优势将在下文中讨论。

6.1.5　DNA 聚合酶能自我校正

DNA 聚合酶是非常精确的，每复制 10^7 个核苷酸对才发生约一次差错。仅仅依靠碱基互补配对的精确性无法解释如此低的出错率。尽管 A-T 和 G-C 配对最稳定，但其他不太稳定的碱基配对，如 G-T 和 C-A，也是可以形成的。相对于正确的情况，这种不正确的碱基配对的频率是很低的，但如果置之不理，突变的累积将会导致细胞无法存活。正是由于 DNA 聚合酶具有两种能够大大提高 DNA 复制正确性的特殊的性质，这种灾难性的后果才得以避免。其一，

该酶在每一个掺入的核苷酸与模板链之间进行仔细的监测。只有在配对正确的情况下，DNA聚合酶才会催化核苷酸的增长反应。其二，当 DNA 聚合酶发生小概率错误，掺入了错误的核苷酸时，它能通过**校读**活性纠正差错。

DNA 合成时也同样发生校读。聚合酶在向增长的 DNA 链掺入下一个核苷酸之前，会检查前一个掺入的核苷酸是否与模板链正确配对。如果是，聚合酶就掺入下一个核苷酸；如果不是，聚合酶则剪掉不正确配对的碱基，重新再进行一次聚合反应（图 6-13）。这样，DNA 聚合酶具有 5′→3′聚合和 3′→5′校读两种高度准确的活性。这种校读通过一种能切开磷酸二酯键的核酸完成。聚合和校读紧密配合，由聚合酶分子间的不同区域实现这两种活性反应（图 6-14）。

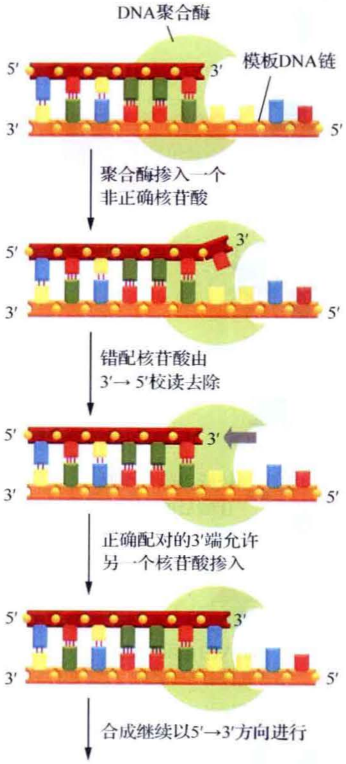


图 6-13 DNA 合成过程中，DNA 聚合酶对其自己的工作进行校读。如果一个错误的核苷酸掺入到一条正在增长的链中，在进一步延伸前，DNA 聚合酶会切除错误核苷酸并代之以正确的核苷酸。

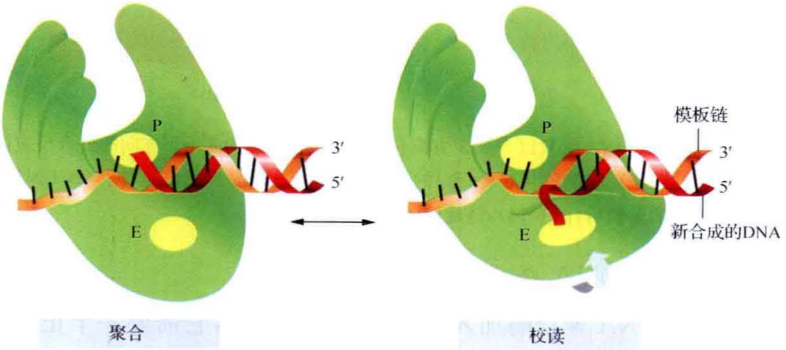


图 6-14 DNA 聚合酶含有 DNA 合成和校读两个不同的位点。此图是一个 X 射线结晶得到的大肠杆菌 DNA 聚合酶分子的结构示意图。粗略地讲，DNA 聚合酶看起来像一只右手，手掌、手指和拇指握住 DNA。图中所示的 DNA 聚合酶与 DNA 模板分别处于聚合模式（左图）和校读模式（右图）。催化聚合活动的位点（P）和纠正错误的校读位点（E）在图中进行了注明。当掺入一个不正确的核苷酸，新合成的 DNA（红色）瞬时无法与模板（橘色）配对，聚合酶就会发生构象变化（用灰色箭头标注），将纠正错误的催化位点移动到可以将新掺入的核苷酸移走的位置。

这种校读机制解释了为何 DNA 聚合酶只能以 5′→3′方向合成 DNA，尽管这使得在复制叉处需要非常复杂的“回针缝合”机制。如图 6-15 A 所示，假如存在一种 DNA 聚合酶，它能以 3′→5′方向合成 DNA（因此也就不需要“回针缝合”），那么它就不可能具备校读功能：如果聚合酶除去了一个不正确配对的碱基，就将产生一个链末端。在化学上，这个末端是一个死端，DNA 链将无法继续延伸。这样，为了保证在 DNA 聚合酶沿着 DNA 链移动时具有自我修复的酶活性，也就是说，它能消除自身催化多聚反应时产生的差错，它只能以 5′→3′的方向发生作用（图 6-15B）。

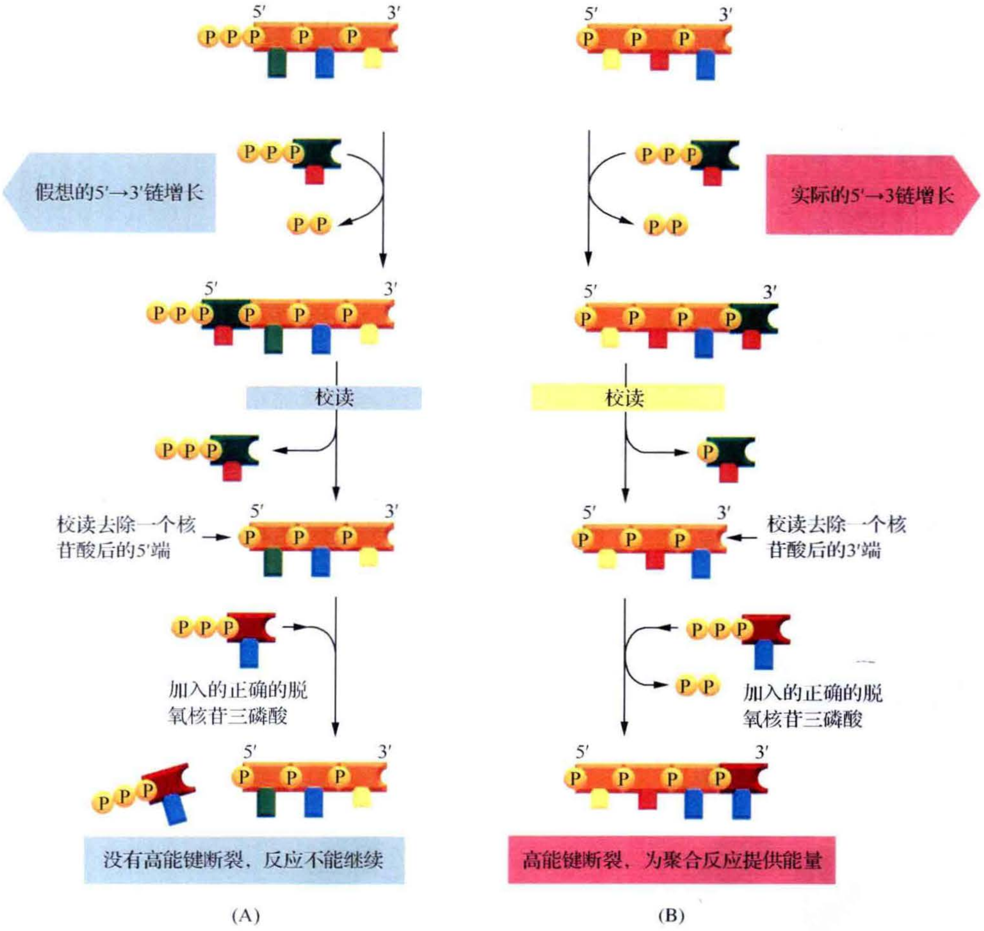


图 6-15　校读的需要解释了为什么 DNA 链只以 5′到 3′方向合成。（A）在假想的 3′→5′方向的聚合反应体系里，校读将一个不正确的核苷酸（深绿色）移走，阻止正确的核苷酸（红色）的掺入，从而防止进一步的链延伸。（B）DNA 链以 5′→3′方向增长，在校读去除聚合酶反应产生的差错后（图 6-14），链延伸还能继续。

6.1.6　短的 RNA 充当 DNA 合成的引物

我们已经了解到，在 DNA 聚合酶加入一个新的碱基之前，它需要一个正确配对的末端，正是这一点保证了 DNA 复制的精确性。可是，聚合酶只能把核苷酸掺入到一条 DNA 双链中已经配对的核苷酸上，它不能创始一条全新的 DNA 链。因此，需要有另一种酶来启动 DNA 链的合成，这种酶能在没有配对碱基末端的情况下，将两个核苷酸连接在一起，从而起始一条新的多聚核苷酸链的合成。这种酶并不合成 DNA，它以 DNA 为模板，合成一小段与 DNA 十分相似的核酸——**RNA（核糖核酸）**。这一小段 RNA 长约 10 个核苷酸，与模板链碱基配对并且为

DNA 聚合酶提供了一个碱基配对的 3′端作为起点。因此，它是 DNA 合成的引物，而合成 RNA 引物的酶则称为引物酶。

引物酶是 RNA 聚合酶的一个实例，这是一种能以 DNA 为模板合成 RNA 的酶。一条 RNA 链的化学性质与一条 DNA 单链十分相似，只是它是由核糖核苷酸亚基构成的，其中的糖基是核糖，而非脱氧核糖；此外，RNA 中尿嘧啶替代胸腺嘧啶(图版 2-6)。然而，U 能与 A 形成碱基配对，所以 RNA 引物是以互补碱基配对的方式在 DNA 链上合成的，与 DNA 合成完全一样。

对于前导链而言，只需要在复制起始处有一个 RNA 引物来启动复制；一旦复制叉形成，随着 DNA 聚合酶在模板链上的移动，它连续不断地产生一个碱基配对的 3′端。然而，在 DNA 非连续合成的后续链上，新的引物必须被连续地合成(图 6-12)。随着复制叉的移动暴露出一段新的未配对碱基，沿着后随链每隔一段距离就有新的 RNA 引物产生。DNA 聚合酶在引物的 3′端加上一个脱氧核糖核苷酸开始了 DNA 链的合成，DNA 链的合成将延伸下去，直至它遇到另一个 RNA 引物(图 6-16)。

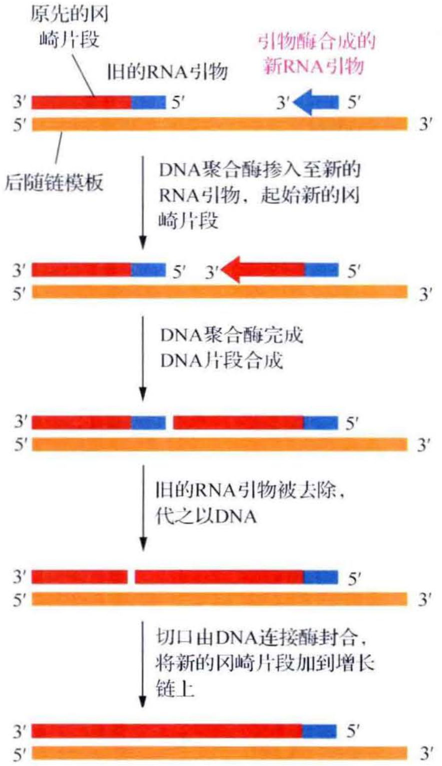


图 6-16　后随链上 DNA 以片段形式合成。在真核生物中，后随链上约每 200 个核苷酸产生一个 RNA 引物，每个 RNA 引物的长度为 10 个核苷酸。在大肠杆菌中，引物和冈崎片段分别约为 5 个和 1000 个核苷酸。引物由能在 DNA/RNA 杂合链中识别 RNA 链的核酸酶去除并降解，留下的缺口由 DNA 修复聚合酶填补，此酶同时也有校读功能。所有的片段最终由 DNA 连接酶连在一起，这种酶催化一个片段的 3′-OH 基和另一个的 5′-P 端形成磷酸二酯键，最终将糖-磷酸主链连接起来。这个填补缺口的反应需要以 ATP 或 NADH 的形式供给能量。

后随链最初是许多小片段 DNA，由这些小片段 DNA 产生一条新的连续的 DNA 链还需要三种酶。它们能快速地除去 RNA 引物，代之以 DNA，再将 DNA 片段连接在一起。于是，一种核酸酶降解 RNA 引物，一种名为修复聚合酶的 DNA 聚合酶然后以 DNA 替换 RNA(利用相邻冈崎片段的末端作为引物)，还有一种 DNA 连接酶将新合成的 DNA 片段的 5′磷酸基末端与另一段相邻的 3′羟基端连接在一起(图 6-16)。

引物酶之所以有能起始新的多聚核苷酸链合成的活性，就是因为它并不校读其产物，结果引物中含有较高频率的差错。然而，由于引物是 RNA 而非 DNA，它们被视为“可疑拷贝”，从而将被自动清除而以 DNA 代之。DNA 由 DNA 修复聚合酶插入，这种酶就像复制聚合酶一样，在合成 DNA 的同时进行校读。在这种方式下，细胞的复制机构能够在起始新的 DNA 链合

成的同时，保证全部 DNA 被精确地复制。

6.1.7 在复制叉处的蛋白质相互协调，形成复制机器

如前所述，DNA 复制需要多种不同的蛋白质一起参与。现在，我们将讨论这些蛋白质，它们与 DNA 聚合酶和引物酶一起形成一种蛋白质机器，共同推动复制叉前进，并且随之合成新的 DNA 链。

为了使 DNA 合成得以进行，在复制叉前面的双螺旋必须解开，使掺入的脱氧核糖核苷三磷酸能与模板链形成碱基对。两类复制蛋白——DNA 解旋酶和单链结合蛋白通过相互协调完成这一任务。在复制机器的最前头是*解旋酶*，这种蛋白质在沿着 DNA 快速移动时利用 ATP 水解产生的能量撬开双螺旋(图 6-17A 和视频 6.2)。*单链结合蛋白*，结合于被解旋酶所暴露出

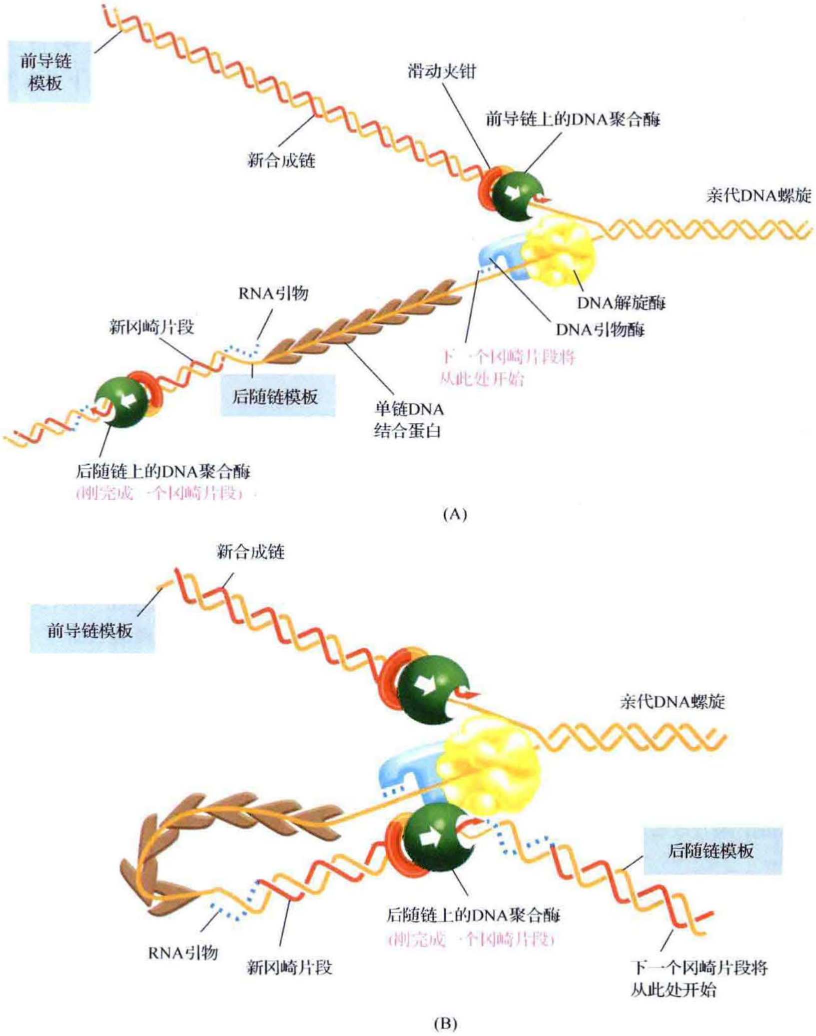


图 6-17 DNA 合成通过一组作为复制机器的蛋白质来进行。(A)图中显示了两个 DNA 聚合酶分子，一个位于前导链，另一个位于后随链。环状的蛋白质夹钳使两个酶始终结合在 DNA 上，并使之沿着 DNA 滑动。在后随链的模板上，每次开始合成新的冈崎片段时，需要一个夹钳装载机(未显示)重新连接滑动的夹钳。在复制叉的头部，DNA 解旋酶利用 ATP 水解产生的能量向前推动它自己，从而将亲代 DNA 双螺旋分开。单链 DNA 结合蛋白使分开的 DNA 链保持单链状态以便于引物酶和聚合酶结合。为简单起见，本图内各种蛋白质独立工作，在细胞内，这些蛋白质聚合形成一个大的复制机器，如图(B)所示。(B)此图显示目前关于复制叉移动时复制蛋白如何排布于其上的观点。图示结构由图 A 中的结构转变而来。后随链上的 DNA 折叠使其上的 DNA 聚合酶与前导链的 DNA 聚合酶接触。这一折叠过程也使得刚完成的冈崎片段的 3′端与下一个冈崎片段的起始位置相接近。因为后随链的 DNA 聚合酶分子被其余的那些复制蛋白质抓住，它可再用于合成连续的冈崎片段。在本图中，后随链上的 DNA 聚合酶将要释放它已完成的 DNA 片段，移向附近即将被合成的 RNA 引物，以便起始后随链上下一个 DNA 片段的合成。在视频 6.5 中可以观看到复制复合物的运动。

来的 DNA 单链，暂时性地防止它们重新形成碱基配对并保持伸展的形式，以便它方便地作为 DNA 聚合酶的模板。

另外一个蛋白质则被称为滑动夹钳(sliding clamp)，在合成新的 DNA 链时，它能使 DNA 聚合酶牢固地结合于 DNA 模板上。除了这种蛋白质本身，大多数 DNA 聚合酶分子从 DNA 模板上掉下来之前只会合成一小段核苷酸。这种夹钳蛋白质围绕 DNA 螺旋形成一个环状结构，通过紧紧钳住聚合酶，使得聚合酶沿着模板链滑动而不掉落，并合成新的 DNA(图 6-17A和视频 6.3)。

集合围绕在 DNA 周围的夹钳需要另一种复制蛋白质的活性——夹钳加载机(clamp loader)，这是一种每当锁住 DNA 周围的夹钳时就会水解 ATP 的蛋白质。这种加载在每个复制周期中对于前导链仅发生一次；但是，在后随链上，每当合成一个新的冈崎片段时，滑动夹钳先被移走随后又被重新连接上去。

大部分参与 DNA 复制的酶结合在一起，形成一个大的多酶复合物，它以一个整体沿着 DNA 移动，使得在两条链上的 DNA 合成以一种协调的方式进行。我们不妨把这个复合物比作一台微型缝纫机，它由蛋白质组成，由三磷酸核苷水解产生的能量所驱动(视频 6.4)。尽管对于这台复制机器的单个蛋白的组成结构已经得到确定，但是这些组成是如何实现相互适应并作为一个团队运行，这仍是完全未知的。关于这种复合物大致的外观特征现在已经描绘出来，虽然对它的细节了解尚待时日(图 6-17B)。

6.1.8 端粒酶复制真核生物染色体末端

在讨论了 DNA 是如何从起始点开始复制和如何沿着复制叉进行移动之后，我们开始关注染色体最末端复制的特殊问题。我们前面讨论过 DNA 仅沿着 5′→3′方向复制，这意味着复制叉的后随链以非连续的 DNA 片段形式合成，每个片段均在一个单独的酶的作用下，以一段 RNA 为引物进行合成(图 6-16)。然而，当复制叉接近一条染色体的末端，复制机器就遇到一个严重的问题：在线性 DNA 分子的最末端，RNA 引物没有地方着陆以起始冈崎片段。不先解决这一问题，某些 DNA 会在复制的时候不可避免地从一个 DNA 分子的末端丢失。

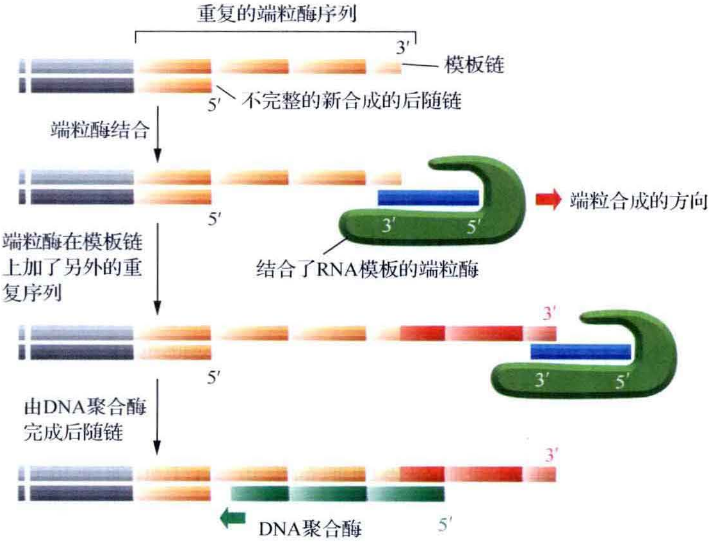


图 6-18 端粒使真核生物染色体末端完成 DNA 合成。为了在真核生物染色体的最末端合成后随链，DNA 复制机器要求模板 DNA 延伸的长度超过将被拷贝的 DNA 的长度。因而，在一个线性 DNA 分子内，后随链的合成在模板末端前的一小段处停止。如图所示，端粒酶将一系列重复的 DNA 加入到模板链的 3′端，这就使得后随链可以由 DNA 聚合酶完成合成。人类重复的核苷酸序列是 GGGGTTA。端粒酶携带一小段与 DNA 重复序列互补的 RNA(蓝色)；这个 RNA 是作为端粒酶合成 DNA 的模板。视频 6.6 展示了端粒酶的运动。

细菌以环状 DNA 分子为染色体解决了这个“末端复制”的难题。而真核生物则通过在染色体末端带有特殊核苷酸序列解决了这一问题，把这些特殊核苷酸序列整合到了端粒中。这些

末端的 DNA 序列将一种称为端粒酶的酶吸引到染色体。端粒酶本身的一部分即为 RNA 模板，端粒酶通过将多条相同的短 DNA 序列拷贝添加到染色体末端对那些在其染色体复制时丢失的核苷酸进行补充。这一伸展、重复的 DNA 序列就能作为模板，允许后随链以常规的复制方式完成复制。

除了允许染色体末端的复制，端粒酶还行使额外的功能，例如，重复的端粒 DNA 序列和邻接它们的区域一起，形成被细胞认为是一条染色体真正的末端结构。这就使得每个染色体末端能与在染色体中段偶然出现的双链断裂区分开。正如我们在下节中看到的，这些断裂必须立刻得到修复。

6.2 DNA 修复

生物是多种多样的，地球表面的每一个角落几乎都有生物体的存在，这一切都归因于数百万年来遗传变化逐步的积累。这些变化使得生物体能适应改变的环境并在新的栖息地兴旺。然而，就短期而言，并从个体水平上看，基因序列的改变几乎总是有害的，特别是在多细胞生物中。由于其发育和生理过程极其复杂并且受到精确调控，基因序列的变化很可能会打乱这些过程。为了生存和繁殖，个体必须保持遗传上的稳定。我们已经讨论过确保 DNA 精确复制的机制，除此之外，各种不同的蛋白质机器对基因组的损坏处进行持续的扫描和修复也确保了遗传的稳定性。的确，DNA 的损坏仅仅是暂时的，因为它们在 **DNA 修复**过程中都会被立刻校正。

6.2.1 突变能对一个细胞或生物体产生严重的后果

只是在极少的情况下，细胞的 DNA 复制和修复过程的失败会在 DNA 上留下永久性改变。这种改变就是**突变**，突变可能产生十分深远的后果。如果 DNA 序列的一个关键位置发生改变，即使只是单个核苷酸对的突变都可能严重损害生物体的健康。由于蛋白质的结构和活性取决于其氨基酸序列，因此某种蛋白质的序列如果发生改变，其功能就会削弱，甚至完全湮灭。这里就有一个例子，在人体内，血红蛋白被用于血液中传递氧（见图 4-20）。单个核苷酸的永久性改变使得细胞产生带有错误氨基酸序列的血红蛋白。其中一种突变造成了镰状细胞贫血病（图 6-19）。与正常的血红蛋白比较，镰状细胞的血红蛋白难以溶解，可形成纤维状沉淀，最终导致受其影响的红细胞呈现特征性的镰刀状。这些细胞比较脆弱，在血流中经常破裂，患有这种潜在的威胁生命疾病的患者，红细胞比正常人的少（图 6-19C），这种缺陷会导致虚弱、眩晕、头痛、疼痛和器官衰竭。

镰状细胞贫血病是一种遗传性疾病，这个例子表明了 DNA 修复使生殖细胞免受突变的重要性。一个发生于生殖细胞内的点突变可以传递给子代，一个由该生殖细胞发育成的多细胞生物体的所有细胞均携带了这种突变，其中包括负责繁衍下一代的生殖细胞。

多细胞生物中的其他细胞（它的体细胞）也必须避免在个体一生中出现的遗传改变。体细胞内核苷酸的变化导致了变异细胞的产生，其中有些细胞以牺牲生物体内正常细胞为代价而毫无限制地增长。在极端情况下，未被控制的细胞增殖导致了癌症。欧洲和北美 30% 的死亡原因是这种疾病，它主要是由体细胞内 DNA 序列上逐渐积累的变化所造成，这些变化源于随机突变（图 6-20）。只要突变频率增加 2 或 3 倍，就可能会由于加速了体细胞发生变异的频率而灾难性地增加癌症发病率。

所以，高保真地复制和维持 DNA 序列对于生殖细胞和体细胞都很重要，生殖细胞负责将基因传递到下一代，体细胞则在多细胞生物内形成一个复杂的群体，每种细胞的功能受到精细的调控。因此，当我们发现所有的细胞都拥有一套用以减少 DNA 突变的先进机制时，一点也不会感到惊奇。

图 6-19 单个核苷酸的改变导致镰状细胞贫血病。(A)β-珠蛋白是形成血红蛋白的两类亚基的其中之一(图 4-20)。在镰状细胞中,产生 β-珠蛋白的基因含有一个碱基的改变(突变),由其指导合成的 β-珠蛋白与正常的相比仅有一处改变,在第 6 个氨基酸位置上,由谷氨酸变为缬氨酸(这里只显示了基因的一小部分;β-珠蛋白亚基总共有 146 个氨基酸)。每个人携带这种基因的两份拷贝(从父母处各得一份),两份基因之一发生突变对个体不造成伤害,因为正常基因能够补偿其作用。然而,一个携带了两份突变 β-珠蛋白基因的个体表现出镰状细胞贫血病症状。(B)展示正常红细胞。(C)展示了镰状细胞贫血病患者的红细胞。虽然镰状细胞贫血病是一种危及生命的疾病,但是突变也可以是有利的。患有这种疾病的人,或者是携带了一个正常基因和一个镰状细胞基因的人,比未受影响的人对疟疾的抵抗力要强,因为导致疟疾的寄生物无法在含有镰状细胞形式的血红蛋白的红血细胞中正常生长。

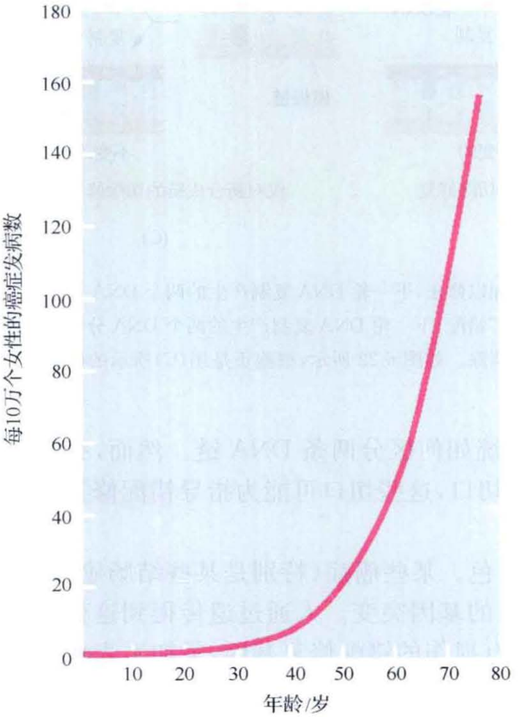


图 6-20 癌症发病率是随着年龄增长的函数而急剧增加。一年内在英格兰和威尔士诊断的女性结肠癌发病数与诊断时年龄的函数图。结肠癌由多个突变累积所致。因为细胞 DNA 持续地经受意外变化并将之传递给子细胞,所以随着年龄的增长,细胞癌变的概率大大增加。(数据来源于 C. Muir et al.,Cancer Incidence in Five Continents,Vol Ⅴ. Lyon:International Agency for Research on Cancer,1987)

6.2.2 DNA 错配修复系统清除被复制机器忽略了的复制差错

在本章的第一部分,我们已经看到细胞的复制机器尽量避免拷贝错误。尽管如此,某些错误还是会发生。幸运的是,细胞内存在一个名为 DNA 错配修复的后备系统,专门纠正这些罕

见的差错。复制机器大约每 10^7 个核苷酸出现一次错误，DNA 错配修复系统纠正 99%的差错，这样，整个精确度提高到大约每复制 10^9 个核苷酸出现一次差错。这种精确度比我们日常生活所遇到的事件要高出许多(表 6-1)。

表 6-1 错误率

美国邮政国内一级邮件的准时递送	每 100 件包裹延迟 13 件
航空公司行李运送	每 200 件行李丢失 1 件
职业打字员以每分钟 120 个单词打字	每 250 个字符出错一次
在美国驾车	每年每 10^4 个人中一人死亡
DNA 复制(不包括错配修复)	每拷贝 10^7 个核苷酸出错一次
DNA 复制(包括错配修复)	每拷贝 10^9 个核苷酸出错一次

每当复制机器产生一个拷贝错误时，它就留下一个错误配对的碱基(通常叫做错配)。如果错配不被修复，在下一轮 DNA 复制后，它将产生一个突变(图 6-21A)。一种错配修复蛋白质复合物能够识别这些 DNA 错配，除掉(切除)错配处两条 DNA 链中的一条，最后重新合成丢失的链(图 6-22)。为了有效地校正这些复制错误，错配修复系统必须是只切除新合成的 DNA 链：切除另一条链(旧链)非但不能修正错误，反而重复了突变(图 6-21B 和 C)。

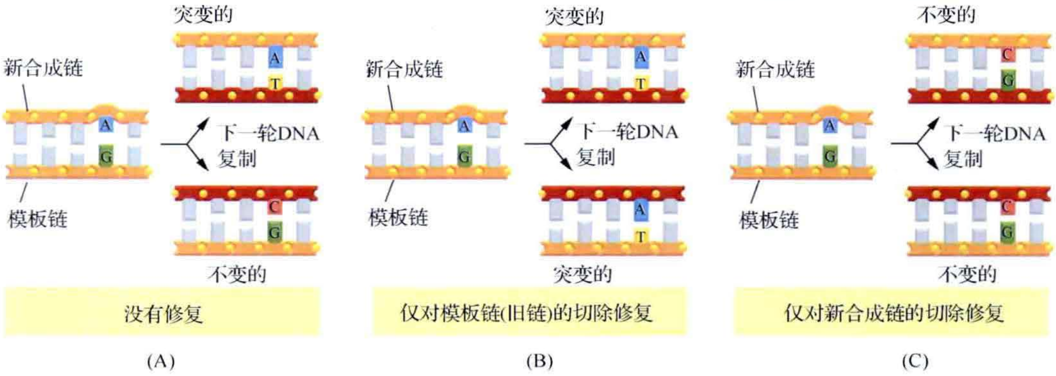


图 6-21 DNA 复制过程中的错误必须修正以防突变。(A)若不加以修正，下一轮 DNA 复制产生的两个 DNA 分子之一将带有永久性的突变。(B)若以新合成的 DNA 链为模板来“修复”错配，下一轮 DNA 复制产生的两个 DNA 分子都将含有一个突变。(C)若以原始链(旧链)为模板修复错配，突变将被清除。如图 6-22 所示，细胞正是用(C)所示的体系修复错配的。

在真核生物内，我们并不确切了解错配修复系统如何区分两条 DNA 链。然而，有证据表明新合成的 DNA 链——前导链和后随链较易产生切口，这些切口可能为指导错配修复系统定位于正确的链提供信号(图 6-22)。

错配修复系统在抗癌方面扮演着极其重要的角色。某些癌症(特别是某些结肠癌)具有遗传易感性的一个内在诱因是编码一种错配修复蛋白的基因突变。人通过遗传得到这种基因的两份拷贝(父母方各一份)，如果一个个体得到一份有损伤的错配修复基因，最初不表现任何症状。当另一份完好的基因拷贝在体细胞内由于突变而受到损伤后，这些体细胞的克隆由于错配修复的缺陷，以相对于正常细胞快得多的速率积累突变。多数癌症源于积累了多个突变的细胞(图 6-20)，所以错配修复缺陷的细胞变成癌细胞的可能性较大。因此，继承了一个已损坏的错配修复基因的个体容易患癌症。

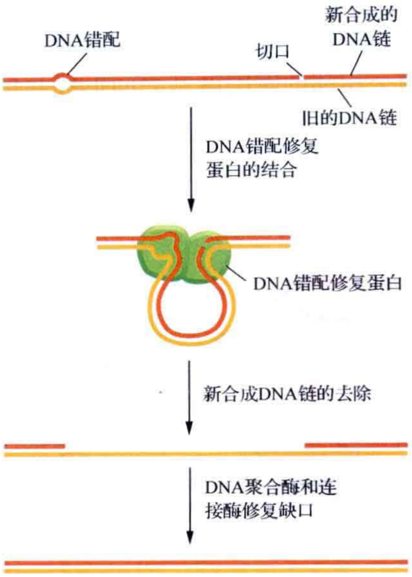


图 6-22 DNA 错配修复蛋白纠正在 DNA 复制期间发生的错误。当一个错误配对的碱基掺入一条新合成的 DNA 链时，就形成了一处错配，该错配使 DNA 双螺旋的几何形状发生扭曲。随后，DNA 错配修复蛋白能识别这种变型，然后去除这新合成的 DNA。在此新合成 DNA 中的缺口由 DNA 聚合酶填补，这种酶在合成的同时也能校读，最后由 DNA 连接酶封接。如图所示，一般认为 DNA 链上的切口为错配修复蛋白提供了区分新合成链（含有错误）与旧链的信息。已经知道，在后随链上有这样的切口（图 6-12），而在前导链，尽管发生频率较低，但也可观察到这种切口的存在。在复制叉通过后，这些切口仅会保留一小段时间（图 6-16），因此错配修复必须快速进行。

6.2.3 DNA 在细胞内持续不断地受到损伤

我们已经看到，DNA 复制的罕见差错能被错配修复系统所校正。DNA 也能被其他方式所损伤，这就需要其他机制来修复。和细胞内的其他分子一样，DNA 连续不断地与其他分子发生热碰撞，并且经常导致 DNA 分子发生化学变化。举个例子来说，就在读完这句话所用的时间内，通过一种名为脱嘌呤的自发反应，你身体细胞内的 DNA 总共丢失约 1 万亿个（10^{12}）嘌呤碱基（A 和 G）（图 6-23）。脱嘌呤并不打断磷酸二酯键主链，而是产生一种类似于牙齿脱落的损

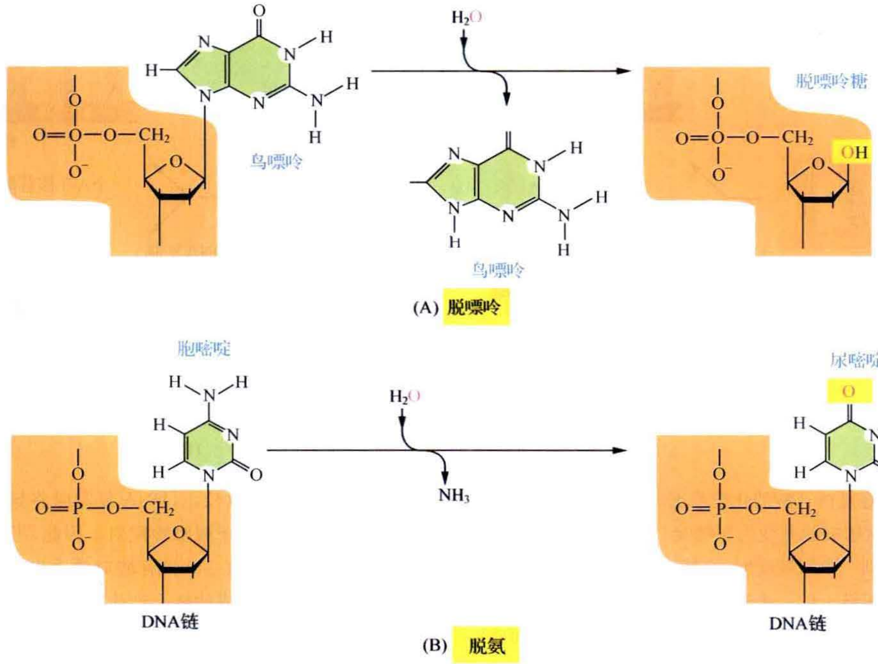


图 6-23 脱嘌呤和脱氨反应是最常见的在细胞内造成 DNA 严重损伤的自发化学反应。（A）脱嘌呤使鸟嘌呤和腺嘌呤脱离 DNA。（B）脱氨反应的主要形式是使胞嘧啶转化为一个改变了的 DNA 碱基尿嘧啶，但在其他碱基，脱氨反应也能发生。这两种反应均发生于 DNA 双螺旋，且均未破坏磷酸二酯骨架（用橘色突出），为方便起见，图中只展示了一条链。

伤。另外一种主要变化是 DNA 上的胞嘧啶自发地丢失一个氨基基团(脱氨),胞嘧啶由此变为尿嘧啶(图 6-23)。代谢产生的化学活性副产物偶尔也会与 DNA 上的碱基发生反应,改变它们的碱基配对特性。阳光中的紫外线也能损伤 DNA,促使两个相邻的嘧啶碱基之间形成共价连接,即二聚体,图 6-24 所示即为胸腺嘧啶二聚体。

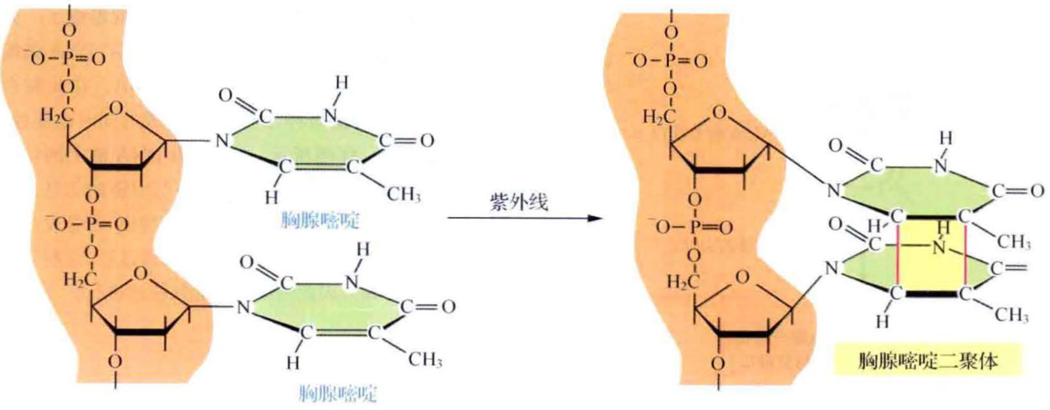


图 6-24 阳光中的紫外线辐射导致 DNA 损伤。两个相邻的胸腺嘧啶碱基之间共价结合形成胸腺嘧啶二聚体,暴露于阳光的皮肤细胞对这种 DNA 损伤十分敏感。

这些仅仅是可能发生于我们 DNA 上的突变的一部分。如果不加以修复,它们中的许多将会因复制时碱基配对不正确导致碱基对替换(图 6-25)或者复制的子链中有一个或多个核苷酸对的缺失。某些 DNA 损伤(如胸腺嘧啶二聚体)经常使 DNA 复制机构在损伤位点停止运转。所有这些损伤若不加以修复,将对生物体造成灾难性的后果。

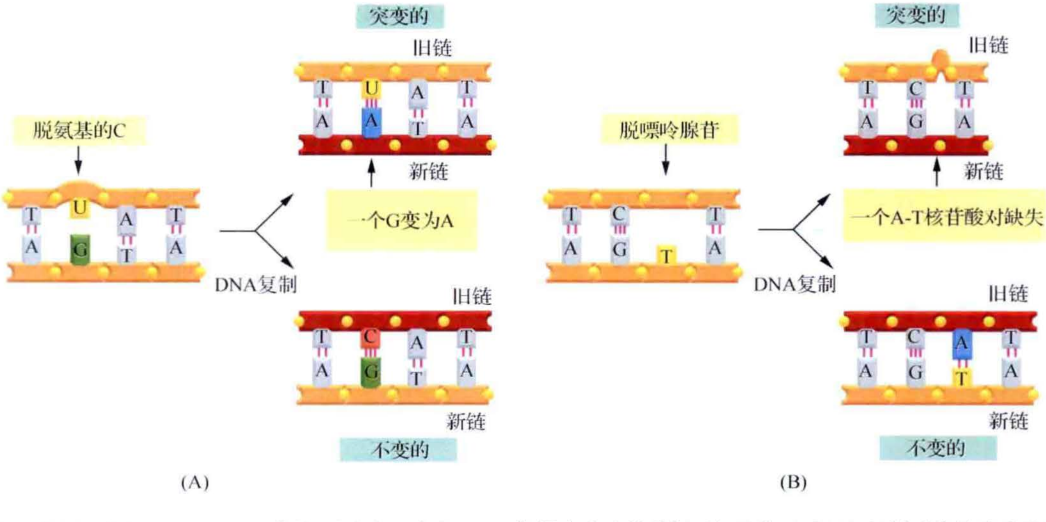


图 6-25 如果不修复核苷酸的化学修饰,就会产生突变。(A)如果胞嘧啶的脱氨不加以校正,DNA 复制时将导致碱基置换。如图 6-23 所示,胞嘧啶脱氨变为尿嘧啶。尿嘧啶与胞嘧啶的碱基配对特性不同,它优先于腺嘌呤配对。因此,当 DNA 复制机器在模板链上遇到一个尿嘧啶时,会掺入一个腺嘌呤。(B)脱嘌呤若不加以修复,会导致一个核苷酸对的丢失。如图所示,当复制机构遇到模板链上的一个缺失嘌呤时,它会跳到下一个完整的核苷酸,从而在新合成的链上产生一个核苷酸的缺失。在其他情况下(图中未展示),复制机器会在缺失的碱基对面放置一个错误的核苷酸,还是产生一个突变。

6.2.4 基因的稳定性取决于 DNA 修复

人体细胞内的 DNA 每天都由于暴露在损伤 DNA 的化学品或是代谢事故而产生数以千计

的随机的化学改变，是由细胞内存在的各种机制所修复，每种由一套不同的酶所催化。几乎所有这些机制都依赖于双份遗传信息拷贝的存在，DNA 双螺旋中的每条链各有一份：如果一条链中的序列意外受损，信息的丢失并非无法挽回，这是由于被改变链的信息仍有一个备用版本，它保存在与之互补的另一条链的序列中。多数损伤会产生正常链中所没有的结构，这使得正常链与受损链易于区分。图 6-26 纲要性地说明了修复 DNA 损伤的基本途径。如图所示，这通常包括三步：

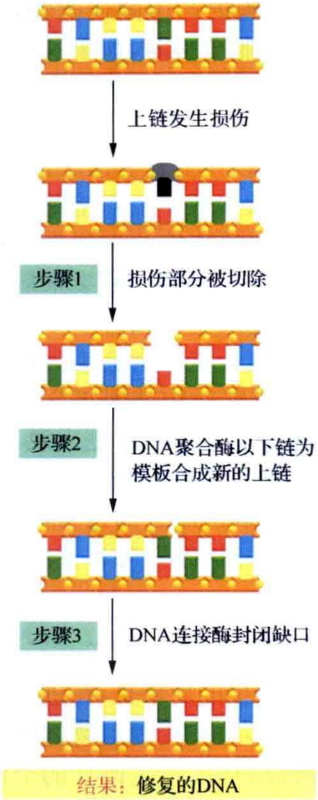


图 6-26　DNA 修复的基本机制包括三个步骤：剪切、重新合成和连接。在第一步中（剪切），损伤由一系列核酸酶之一切除，这许多核酸酶的每一种均针对一种特异性的 DNA 损伤。在第二步中（重新合成），DNA 修复聚合酶填补了切除所产生的缺口恢复了原来的 DNA 序列。在第三步中（连接），DNA 连接酶最终封接修复链的糖-磷酸主链上的切口。需要 ATP 水解产生能量的切口封接，重新建成相邻核苷酸之间的已被破坏了的磷酸二酯键。本示意图仅涉及单个核苷酸置换的 DNA 损伤（如胞嘧啶的脱氨，图 6-23）。对于其他种类的 DNA 损伤的修复，如胸腺嘧啶二聚体（图 6-24），要从受损链上移走 10～20 个核苷酸的一段 DNA。

(1) 受损的 DNA 被多种核酸酶中的一种识别并去除，核酸酶切开损伤核苷酸与 DNA 分子其他部分相连的共价键，在该区域的 DNA 双螺旋中的一条链上留下一个缺口。

(2) 一种 DNA 修复聚合酶结合于切开的 DNA 链的 3′端。通过合成储存在正常链上信息的互补拷贝，这种酶填补上缺口。尽管 DNA 修复聚合酶与复制 DNA 的 DNA 聚合酶不同，但它们以相同的方式合成 DNA 链。例如，它以 5′→3′方向延伸 DNA 链，它还同样具有校读活性以确保模板链精确复制。在许多细胞内，就是这种酶填补正常 DNA 复制过程中 RNA 引物去除后所留下的缺口（图 6-20）。

(3) DNA 修复聚合酶填补了缺口后，在修复链的糖-磷酸主链上仍有一个断裂。这个双螺旋上的切口由 DNA 连接酶封接，这种酶也同样应用于 DNA 复制时后随链片段的连接。

第(2)、(3)步对于大多数 DNA 修复几乎是相同的，其中也包括错配修复。然而，步骤 1 利用一系列不同的酶，每种酶特异性地去除不同的 DNA 损伤。

修复过程的重要性反映在细胞对合成 DNA 修复酶的大量投入。像酵母这样的单细胞生物有 50 多种蛋白质行使 DNA 修复功能，人体内的 DNA 修复途径甚至更加复杂。从 DNA 修复功能障碍所造成的后果也可以看出修复过程的重要性。举个例子来说，遗传性疾病着色性干皮病是由于编码一种参与修复过程的蛋白质的基因有缺陷，以致不能修复胸腺嘧啶二聚体

(图 6-24)。这种病的患者会患严重的皮肤病包括皮肤癌，这是因为暴露于阳光的细胞中积累了胸腺嘧啶二聚体，使其所在的细胞出现相应的多种突变。

6.2.5 双链断裂可以被快速但并不完美地修复

当双螺旋的两条链都断裂时，会发生一种特别危险的 DNA 受损类型，这就是没有留下完整的模板链引导适当的修复。电离辐射、发生在复制叉处的意外、强氧化剂以及细胞内产生的代谢物，都会导致这一类型的断裂。在细胞分裂时，如果这些病变没有得到修复，它们就会迅速导致染色体分裂和基因的丢失。

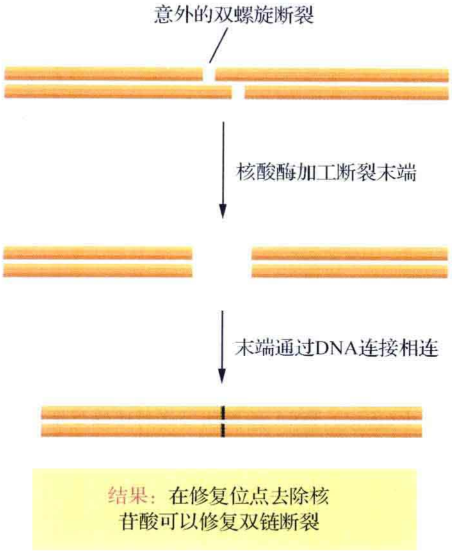


图 6-27 细胞可以利用非同源末端连接来修复双链断裂。这种“快而脏”的机制在修复过程中改变原始 DNA 序列。这种改变通常是短片段的删除。

进化已经产生多种机制可以修复这种潜在的、灾难性的损害。在人体细胞中，大多数修复双链断裂的方式是通过一种称为**非同源末端连接**的机制来实现的。在这一过程中，一组专门的酶将两个断裂末端简单地拉到一起，并通过 DNA 连接重新结合。尽管这种机制修复了断裂，但是在修复位点经常会丢失核苷酸(图 6-27)。由于小部分的哺乳动物基因组含有有用的信息，因此，对于修复断裂染色体的问题来说，这种“快而脏”的机制显然是一种能够接受的解决方法。

细胞还有一种无差错修复双链断裂的策略，尤其是在新复制的 DNA 中。这种机制称为同源重组，将在本章的下一部分中进行讨论。

6.2.6 DNA 复制和修复的保真度的记录保存在基因组序列中

在本章中我们看到了 DNA 序列是如何被复制并维持高保真度。产生的后果是，在进化过程中，积累 DNA 改变的速率非常慢。自然选择也发挥了作用：尽管大多数突变对生物体既无害也无益，但是那些具有有害后果的突变通常会从群体中被清除，携带 DNA 发生改变的个体要么死亡，要么不育。但是，即使不存在选择——DNA 复制时许多位点上的核苷酸改变并不影响生物体的适应值——遗传信息也会被忠实地保存直至上千万年。这样，在趋异进化了 500 万年以后，人和黑猩猩的 DNA 序列仍有 98% 是相同的。人和鲸的趋异分化甚至发生在 5000 万年或 1 亿年前，但他们染色体的 DNA 序列仍然是相似的，许多蛋白质有几乎相同的序列(图 6-28)。因此，在我们的基因组内，我们和我们的亲戚都带有来自遥远的过去的信息。感谢

鲸 GTGTGGTCTCGTGATCAAAGGCGAAAGGTGGCTCTAGAGAATCCC

人 GTGTGGTCTCGCGATCAGAGGCGCAAGATGGCTCTAGAGAATCCC

图 6-28 人与鲸性别决定基因很明显是相似的。人与鲸的外形十分不同，但他们仍然由大体上相同的蛋白质组成。尽管人与鲸的分化已经过了上千万年，但是它们许多基因的核苷酸序列还非常相似。图中展示了人与鲸中决定雄性性别的基因的一部分序列，阴影部分是两者完全相同的部分。

DNA 复制和修复的保真性，上亿年的岁月也很少改变它的主要内容。

6.3 同源重组

至今，我们已讨论了 DNA 的复制和修复机制如何维护核苷酸在一代又一代细胞间传递而只产生极为微小的差别。正如我们所强调的，这些机制有赖于 DNA 双螺旋中固有的冗余，即双螺旋中的每一条链与另一条含有互补信息的链配对。如果一条链上的核苷酸被损坏，通过互补链提供的信息就能将其修复。

但是，当一对核苷酸碱基对同时被损坏——例如，双链均发生断裂时，遗传信息会发生什么情况？正如我们前面所看到的，修复这种损害的一种途径是利用非同源末端连接快速治疗受损处。然而，那种机制通常会舍弃损害的位点所含的信息。还有一种更佳的解决方法是利用另外的完全独立的 DNA 双链提供的遗传信息，精确地修复断裂。这一策略由一套统称为**同源重组**的反应来执行，其主要特点是在一对同源 DNA 分子间，一核苷酸序列相似或相同的 DNA 双链交换遗传信息。这一过程中，完整的，未被损坏的 DNA 双链中的遗传信息作为精确修复受损 DNA 双螺旋的模板。

除了在修复中的作用，同源重组还负责在减数分裂这一有性生殖的生物体产生的生殖细胞细胞分裂的特殊形式的过程中产生遗传多样性。在这种情况下，同源重组在母亲和父亲的染色体之间进行物理性的遗传信息的交换，产生带有新 DNA 序列的染色体。这种类型的基因混合的进化上的潜在收益是产生了一组新的、可能是有益的基因组合，并可以一直传递给生物体的子孙。

这种双链断裂的完美的修复以及减数分裂期间遗传信息的交换，表面上看起来似乎是两个无关的过程。但是在这部分内容中，我们将会看到它们基本的机制极其相似，都建立于一套相似的蛋白质复合物的反应。

6.3.1 同源重组需要有相似序列的大范围区域

减数分裂期间，无论终产物是 DNA 修复，还是核苷酸序列的交换，同源重组的标志都是只在具有相似(同源)序列的大范围区域才会发生。评估一对 DNA 分子是否同源可以通过“典型调查”来进行，即把 DNA 双链中的一条单链与另一 DNA 双链中的一条互补链进行大范围的碱基比对。对于同源重组来说，不需要完全一致的匹配就能完成，但是必须非常接近。

6.3.2 同源重组可以完美地修复 DNA 双链的断裂

当 DNA 被复制之后发生断裂时，通常会启动同源重组。此时，重复的两条双螺旋仍然彼此很靠近(图 6-29A)。开始修复时，一个核酸酶“咬掉”互补 DNA 链中的一条而在断裂处产生单链末端(图 6-29B)。在专门的酶的帮助下，其中一条单链通过与互补链形成碱基配对“入侵”同源的 DNA 双链。如果该单链能够形成大范围的碱基配对，那么在两条 DNA 链间就形成一个交叉点——分别来自不同 DNA 双链中的一条相互交叉(图 6-29C)。入侵的 DNA 链以互补链为模板，在一种修复 DNA 聚合酶的作用下延伸(图 6-29D)。然后，交叉点向前迁移。碱基对填充了双链断裂部分形成一段新的双链(图 6-29E)。通过进一步的 DNA 合成和随之的 DNA 连接，修复得以完成(图 6-29F)。最终的结果是形成两个完整的 DNA 双螺旋，其中一个双螺旋的遗传信息作为修复另一个双螺旋的模板。

同源重组也能用来修复多种其他类型的 DNA 损坏，使之成为细胞内或许是最多功能的 DNA 修复机制：它只需要一个完整的同源染色体作为搭档——而这种配对的、相同的染色体在每次染色体复制的时候都会产生。重组修复的“万能”性质也许揭示了为什么这种机制和执行这一机制的蛋白质几乎在地球上所有的细胞内得以保存下来。

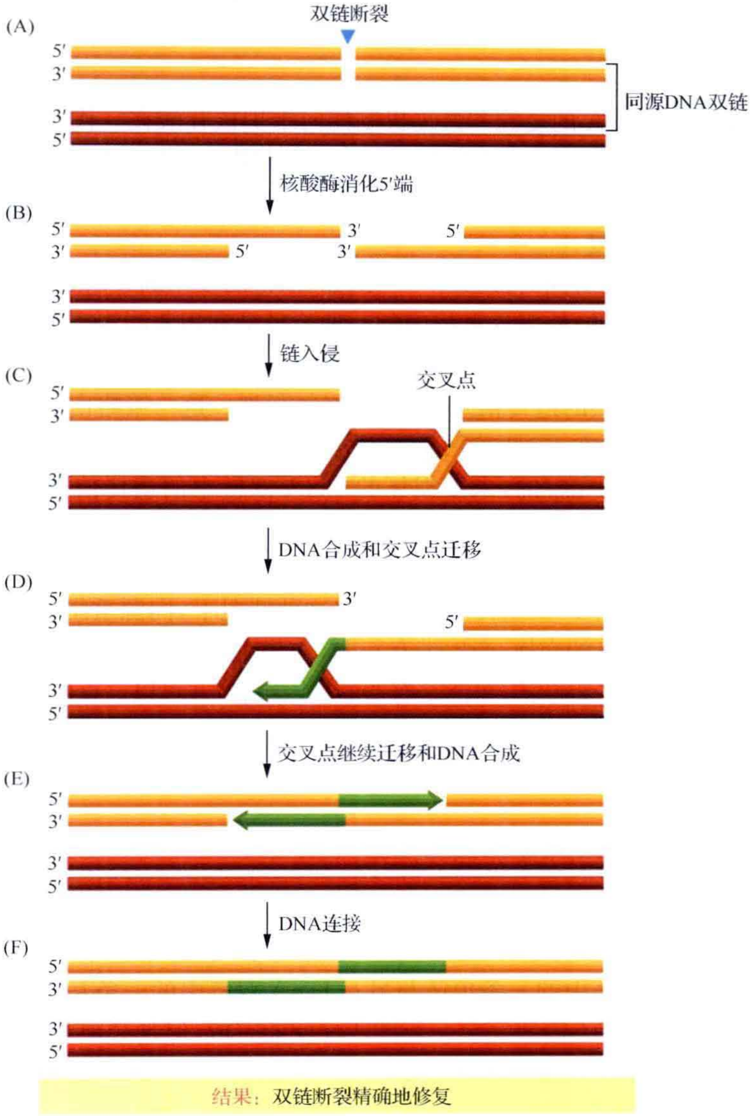


图 6-29　同源重组让 DNA 双链断裂的修复十分完美。该图展示的是 DNA 复制后且在细胞分裂前，修复短暂出现的双螺旋断裂。(改编自 M. McVey et al.，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:15694-15699，2004. 并获 National Academy of Sciences 版权许可)

6.3.3　同源重组在减数分裂期间交换遗传信息

有性生殖的生物体——哺乳动物，依靠减数分裂过程产生生殖细胞——精子和卵细胞。同源重组对于这个过程的恰当进行是必需的，在第 19 章中我们会进行更详细的讨论。减数分裂期间，同源重组的一个非常重要的结果是形成染色体交叉。两条同源染色体——一条来自父亲，一条来自母亲——聚到一起并进行遗传交换(图 6-30)。交换位点可以在参与的两条 DNA 分子的同源核苷酸序列的任何地方。协调交换的断裂和重新连接事件进行得如此精确，以致不会丢失或获得一个单核苷酸。

由于来自父亲和母亲的染色体通常在它们的 DNA 序列上略有区别，这种交叉在每条染色体上会产生新的 DNA 序列组合。这种基因混合对后代生物体的好处如此之多，以致通过同源重组实现基因重组现象远不局限于有性生殖的生物体，它也广泛分布于无性生殖的生物体中，例

如，我们在第 9 章中将会看到，一种细菌通过水平基因转移从另一种细菌细胞中获得同源染色体。

减数分裂过程中同源重组以一个大胆的动作开始：一个特定的酶小心翼翼切开一条重组染色体中的两条链，产生一个双链的断裂。在这个位点上，在重组性双链断裂修复中起作用的那些相同的蛋白质聚集在“受损”的这个位点上。但是，此时在特定的减数分裂蛋白质指挥下这些重组蛋白执行的任务有所不同——通过一或多个交叉，产生带有新的 DNA 序列的双分子（图 6-31）。产生这一结果的可能性在于减数分裂过程中，重组优先在母亲和父亲的染色体间进行，而不是像同源重组介导的双链断裂修复那样在新复制的、相同的 DNA 链间进行。

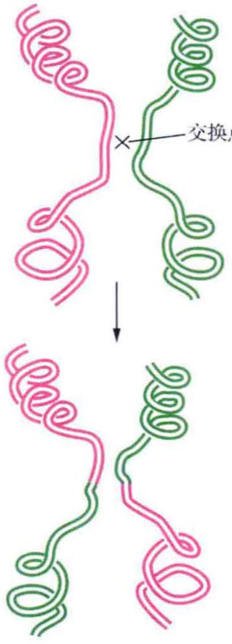


图 6-30　同源重组发生在带有相似核苷酸序列的 DNA 分子之间。两个同源 DNA 双螺旋的打断和重新连接产生两条“交换”了的 DNA 分子。尽管两条原始的 DNA 分子必须要有相似的核苷酸序列以便交换，但它们并不一定要完全相同。这样交换就能产生带有新核苷酸序列的 DNA 分子。

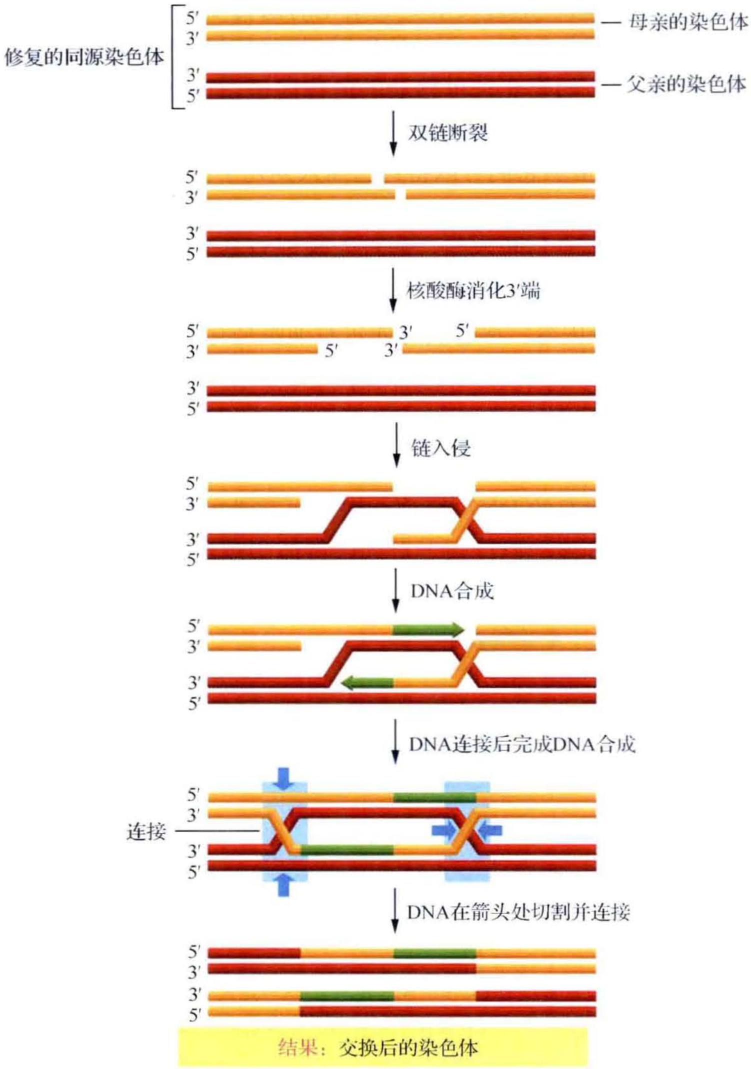


图 6-31　同源重组在减数分裂过程中形成交换。一旦减数分裂特异性的蛋白打断了 DNA 双链并修饰了末端，同源重组就会通过形成的两个 Holliday 连接（蓝色方框）——DNA 双螺旋交叉的位点，以发现该位点的科学家命名而进行。从视频 6.7 中可以在电子显微镜下看到这些结构。减数分裂过程中产生染色体交叉的很多步骤类似于用于修复 DNA 双链断裂的步骤（与图 6-29 相比较）。

减数分裂过程中的交叉确保了我们每一条染色体都含有来自父母的 DNA 序列组合。我们会在第 19 章中详细讨论，在有性生殖生物体内，这种类型的染色体重排产生了大量的遗传多样性，从而对地球上现存的令人惊奇的各种生命形式作出了巨大的贡献。

6.4 可移动的遗传因子和病毒

我们已经看到，同源重组能促进染色体间的 DNA 序列的交换。但这种交换通常是保守的：重组染色体上的基因顺序保持不变，因为仅在序列非常相似的染色体间才会发生同源重组。

但是，基因组也会发生更戏剧化的遗传变异——这种变化是改变染色体上基因的顺序，或者甚至增加新的信息。这正是我们下面要讨论的更加激进的遗传重塑形式。导致这些剧烈的基因变化发生的媒介是**可移动的遗传因子**，有时候也被非正式的称为跳跃基因。在几乎所有细胞中的发现显示，这些因子都是可以从细胞基因组的一个位置移动到另一个位置的特殊短 DNA 片段。虽然它们可以将自己插入到几乎所有基因组的序列中，但是大多数可移动的遗传因子却缺乏离开它们所寄居的细胞的能力。因此它们的移动局限在一个单细胞及细胞的后代内。

病毒的情况与此不同。病毒实际上只是一个保护性外壳包裹着的基因串，它是可移动 DNA 的极限形式，它们可以从一个细胞逃离，然后去感染另外一个细胞。我们以对病毒的简短讨论来结束这一部分内容。尽管病毒偶尔对细胞是有益的，但是它也是大部分严重疾病的罪魁祸首。

6.4.1 可移动的遗传因子编码其移动所需的组件

与同源重组不同，可移动的遗传因子的移动不需要 DNA 序列具有相似性。相反，每个因子通常编码一个专门的重组酶来协调它的移动（图 6-32）。这些酶识别和作用于每个可移动的遗传因子上特有的 DNA 序列。很多可移动的遗传因子亦携带其他的基因。例如，携带抗生素抗性基因的可移动遗传因子对细菌群体中耐药性基因的广泛传播起了重要作用。

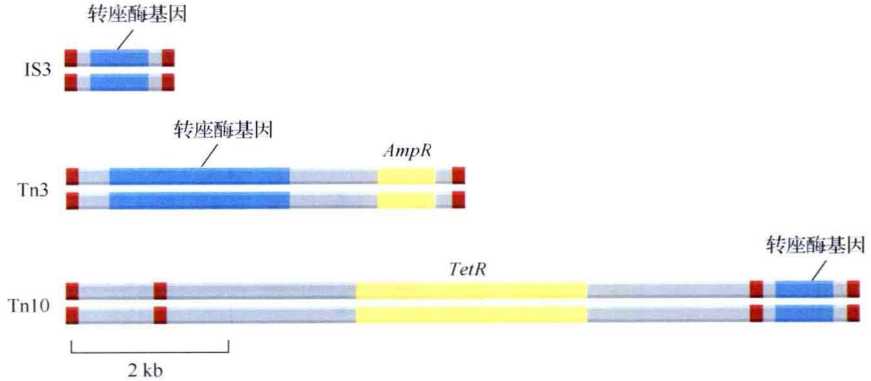


图 6-32 细菌含有许多仅由 DNA 组成的转座子，这里是其中的三种。每一种转座子都含有一个编码转座酶（蓝色）的基因，转座酶能催化转座子移动。每种转座子还带有只能被它自己的转座酶识别的 DNA 序列（以红色表示），这些序列对转座子的移动是必需的。

有些可移动的遗传因子还额外带有使抗生素（如氨苄青霉素和四环素）失活的酶的编码基因（*AmpR*、*TetR*）。这些基因的移动在医学界是一个严重的问题，因为很多致病细菌已经对 20 世纪发展起来的抗生素产生了抵抗力。

可移动的遗传因子也被称作**转座子**，它们按其移动及转座的机制进行基本分类。在细菌中最常见的可移动遗传因子是 DNA 转座子，起这个名字的原因是它们在移动过程中始终保持 DNA 的形式，而不像我们下面即将讨论的被转变为 RNA 的其他因子。细菌中包含许多不同的仅由 DNA 组成的转座子。有些通过简单的剪切-粘贴机制移动到目标位置，据此这个因子可以方便地从一个基因组中切下来并插入到其他地方；有些仅由 DNA 组成的转座子则在插入到

新的染色体位点前会先复制自己的 DNA，将原始拷贝完整地留在先前的位置。

6.4.2 人基因组由两个主要的转座序列家族组成

令人惊奇的是，几乎近半的人类基因组是由多种可移动遗传因子的上百万个拷贝组成，形成我们 DNA 的大部分。其中一些因子利用前面所讨论的仅由 DNA 组成的转座因子的剪切-粘贴机制，从人类基因组的一个地方移动到另一个地方(图 6-33A)。而许多真核生物转座子不是以 DNA 的形式，而是通过一个 RNA 中间体进行移动。这些转座子称为**逆转录转座子**。迄今所知，只有真核生物才有这种转座子。

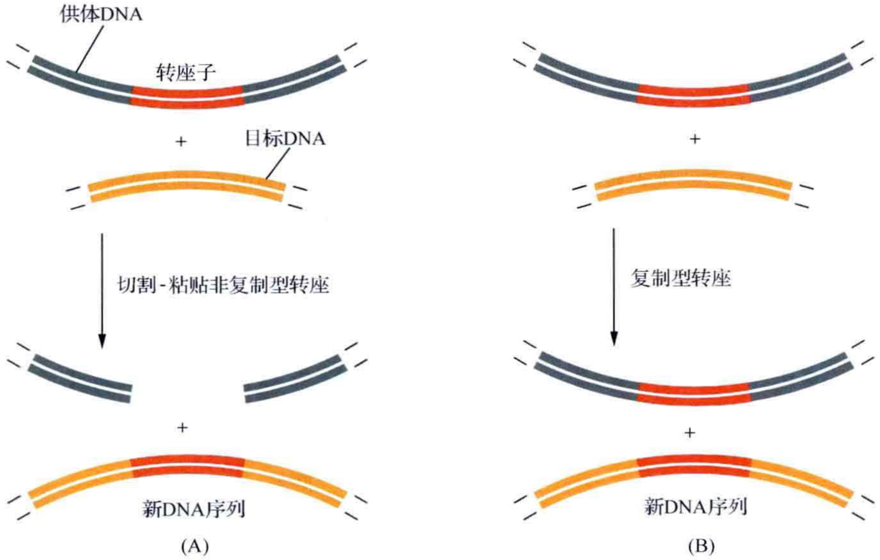


图 6-33 仅由 DNA 组成的转座子通过两类机制进行移动。(A)在剪切-粘贴型转座时，转座子从供体 DNA 上切离下来插入目标 DNA，留下一个断裂的供体 DNA 分子(供体可以经多种方式修复，但这样有时会导致供体分子的缺失或重排)。(B)在复制型转座的过程中，转座子通过 DNA 复制而被复制，终产物是看起来和原始供体一样的分子和一个插入了可移动遗传因子的目标分子。总之，一种特定类型的转座子只通过这些机制中的一种移动。然而，这两种机制在酶方面有很多相似性，少数转座子能够通过这两种机制移动。供体和目标 DNA 可以是同一 DNA 分子的一部分，也可以驻留在不同分子上。

有一种数量很大的人类逆转录转座子，称为 *L1* 因子(有时称为 *LINE-1*)，利用宿主细胞的 RNA 聚合酶转录成 RNA，然后再利用**逆转录酶**合成这种 RNA 的一份 DNA 拷贝。逆转录酶是一种以 RNA 为模板的特殊的 DNA 聚合酶。逆转录酶由其本身的 *LINE-1* 因子编码。随后该 DNA 拷贝重新整合到基因组的另一个位点(图 6-34)。

L1 因子占人类基因组的 15%。尽管大多数拷贝由于有害突变的积累而不可移动，但是仍有一些拷贝保留了转座的能力。它们的移动有时候可能导致人类的疾病。例如，大约 40 年前，一个 *L1* 转座因子插入到编码Ⅷ因子的基因中，导致一个没有任何家族病史的人患上了血友病(Ⅷ因子是一种对血液凝结非常重要的蛋白质)。

另一种逆转录转座子，*Alu* 因子，在我们的基因组中大约有 100 万个拷贝。*Alu* 因子并不编码它们自身的逆转录酶，所以它们依靠细胞中已有的酶来帮助它们移动。

比较不同哺乳动物中 *L1* 和 *Alu* 因子的序列和位置，提示在进化时间上这些序列在灵长类动物中扩增成高拷贝数目是相对较近的事件(图 6-35)。这些丰度很高的散布于我们基因组中的大量因子，肯定对我们的许多基因的表达具有重要作用。真的要认真考虑有多少为我们人类所独有的特性是归因于这些寄生因子的。

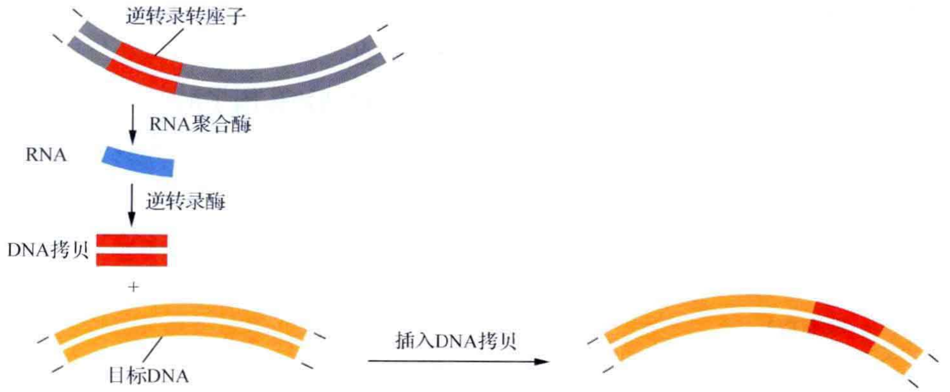


图 6-34 逆转录转座子通过 RNA 中间体移动。这些转座因子先转录成一个 RNA 中间体。然后，由逆转录酶合成这个 RNA 的一个 DNA 拷贝。接着，DNA 拷贝插入靶位置，靶位置可以位于同一 DNA 或不同 DNA 分子上。供体逆转录转座子仍留在起始位置，所以每次它转座的时候，都进行自我复制。这些可移动的遗传因子之所以被称为逆转录转座子，是因为在它们转座的一个阶段，它们的遗传信息发生从 RNA 到 DNA 的反向流动。

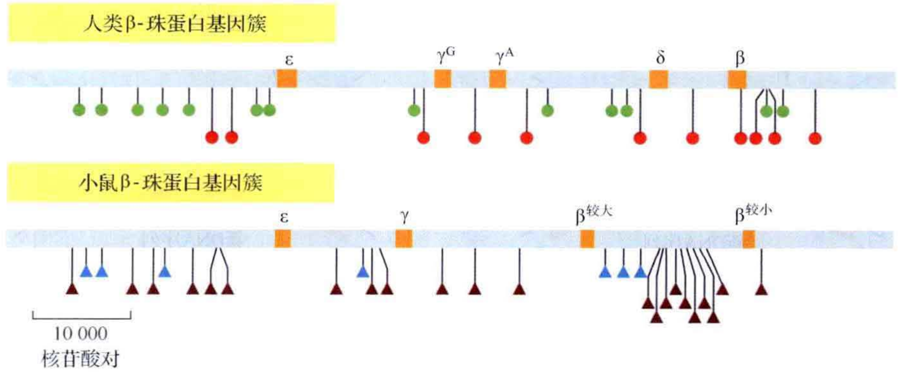


图 6-35 *L1* 和 *Alu* 因子在进化上相对较为近代时扩增成为高拷贝数基因。人的基因组含有由 5 个珠蛋白基因组成的簇（上图）。每个基因（橘色所示，用希腊字母描述）编码血液中携带氧气的一个蛋白质。小鼠基因组中相对的区域（下图）则只含有 4 个珠蛋白基因。人类 *Alu* 序列的位置用绿色圆圈标出，人类 *L1* 因子的位置用红色圆圈标出。小鼠基因组含有不同的转座因子：*B1* 因子（与人类 *Alu* 序列相关）的位置用蓝色三角形标出，小鼠 *L1* 因子（与人类 *L1* 因子相关）用棕色三角形标出。由于小鼠和人类的转座因子的 DNA 序列是独特的，而且因为这些转座因子在 β-珠蛋白基因簇中的转座因子的位置在人类和小鼠中差异也很大，所以它们被认为是在进化上较为近代的时间内，在哺乳动物基因组中积累起来的。（蒙 Ross Hardison 和 Webb Miller 惠许）

6.4.3 病毒是能离开细胞的高度可移动的遗传因子

病毒最先是作为致病因子而被注意到的，因为它的形体很小，能穿过阻挡最小细菌的超细滤膜。我们现在知道病毒基本上就是由具有保护功能的外壳蛋白包裹了基因而形成的。

这些基因必须进入细胞，利用细胞的机器将自己的基因表达成蛋白质和复制染色体。病毒复制本身对宿主细胞经常是致死的。许多情形下感染细胞裂开（裂解）释放出病毒后代，使它们进入邻近的细胞。病毒感染的许多临床症状反映了病毒裂解的后果。例如，单纯疱疹病毒引起的单纯性疱疹和水痘病毒引起的水疱都反映了皮肤细胞的局部死亡。尽管第一个发现的病毒是侵袭哺乳动物细胞的，然而现在已识别出许多类型的病毒，其中有些感染植物细胞，还有的以细菌细胞作为宿主，如我们在本章前面所见到的。

病毒基因组可以由 DNA 或 RNA 组成，可以是单链也可以是双链（表 6-2）。能被包装进蛋

白质外壳的 DNA 或 RNA 的量是有限的，因此病毒基因组非常小以至于不能编码哪怕复制最简单的病毒所需的许多不同的酶和其他蛋白质。因此病毒是只能劫持细胞自身的生化机器来复制自己。病毒基因组通常编码病毒外壳蛋白和一些蛋白质，它们与复制病毒基因组所必需的宿主酶协同作用(图 6-36)。

表 6-2 引起人类疾病的病毒

病毒	基因组类型	疾病
单纯疱疹病毒	双链 DNA	反复唇疱疹
非洲淋巴细胞瘤病毒(EBV)	双链 DNA	感染性的单核细胞增多症
水痘—zoster 病毒	双链 DNA	水痘和带状疱疹
天花病毒	双链 DNA	小痘
乙肝病毒	部分单链，部分双链 DNA	血清肝炎
人类免疫缺陷病毒(HIV)	单链 RNA	艾滋病
流感病毒 A	单链 RNA	呼吸道疾病(流感)
脊髓灰质炎病毒	单链 RNA	小儿麻痹
鼻病毒	单链 RNA	普通感冒
甲肝病毒	单链 RNA	感染性肝炎
丙肝病毒	单链 RNA	非甲、非乙型肝炎
黄热病病毒	单链 RNA	黄热病
狂犬病病毒	单链 RNA	狂犬病
流行性腮腺炎病毒	单链 RNA	流行性腮腺炎
麻疹病毒	单链 RNA	麻疹

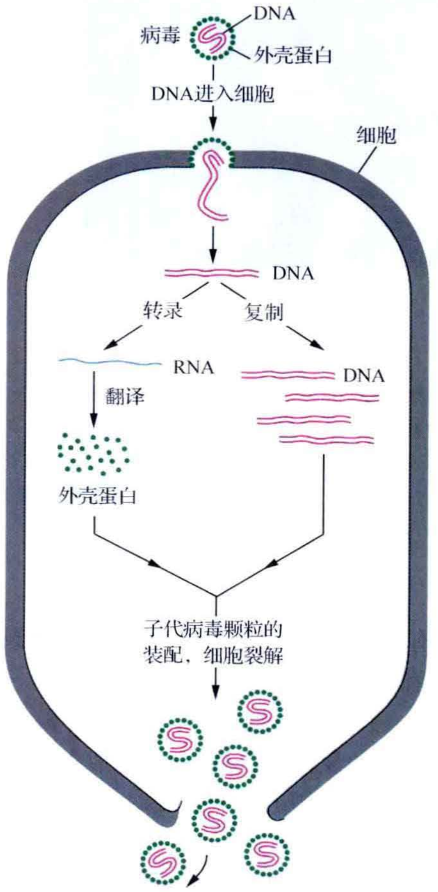


图 6-36 病毒征用宿主细胞的机器以再生产病毒。图示的是假想的简单的病毒，它由一个小的双链 DNA 分子组成，该 DNA 分子仅编码一种病毒外壳蛋白。为了复制，病毒基因组必须进入细胞。紧接着病毒 DNA 复制形成多个拷贝。与此同时，通过转录和翻译的相继步骤，病毒基因表达形成外壳蛋白，这一部分内容将在第 7 章中加以描述(图 7-2)。病毒基因组自发地与外壳蛋白聚集在一起形成新的病毒颗粒。

最简单的病毒由一个蛋白质外壳包围一个小基因组而成。蛋白质外壳主要由一条多肽链的许多拷贝组成，基因组可以小到只有三个基因。更复杂的病毒可以含几百个基因的大基因组，被由许多不同蛋白质构成的精致外壳所包围（图 6-37）。

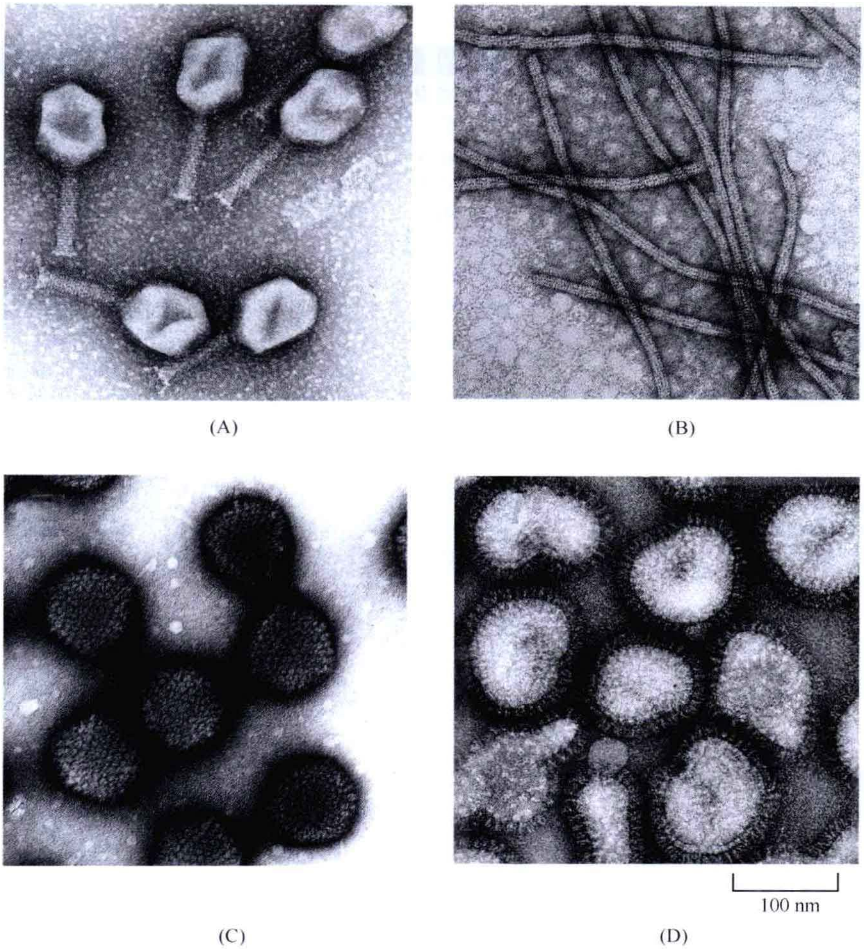


图 6-37　病毒有不同的形状和大小。这些病毒颗粒的电镜照片的比例是一样的。（A）T4，感染大肠杆菌的 DNA 大病毒。DNA 储存在噬菌体的头部，通过圆柱状尾注射进细菌。（B）土豆病毒 X，含有 RNA 基因组的一种植物病毒。（C）腺病毒，一种感染人体细胞的 DNA 病毒。（D）流感病毒，一种大型 RNA 动物病毒，它的蛋白质外壳还被以磷脂双分子层为基础的包膜包围。从包膜中突出的刺是埋在双层膜中的病毒蛋白（图 6-38）。（A 蒙 James Paulson 惠许；B 蒙 Graham Hills 惠许；C 蒙 Mei Lie Wong 惠许；D 蒙 R. C. Williams 和 H. W. Fisher 惠许）

6.4.4　逆转录病毒逆转正常的遗传信息流

尽管细菌和真核生物的病毒有许多相似性，但是有一种重要的病毒类型——**逆转录病毒**（retrovirus）——只在真核细胞中被发现。逆转录病毒和我们前面讨论过的逆转录转座子在许多方面很相似。这两种遗传因子生命周期中都有的一个关键特征是以 RNA 为模板合成 DNA。*retro* 这个前缀指的是通常 DNA 信息往 RNA 流动的反向（图 7-2），而完成这一步的酶是逆转录酶。逆转录病毒基因组（单链 RNA）编码这种酶，几个酶分子和 RNA 基因组一起包装进了每个病毒颗粒。

逆转录病毒的生活周期如图 6-38 所示。当逆转录病毒的单链 RNA 基因组进入一个细胞，

一起带进来的逆转录酶合成一条互补 DNA 链，形成一个 DNA/RNA 杂合双螺旋。RNA 后随链被去掉，逆转录酶(它能以 DNA 或 RNA 作模板)随后合成一条互补链以产生一个 DNA 双螺旋。这个 DNA 然后就被病毒编码的整合酶整合进了宿主基因的一个随机选择的位点。这个病毒是潜伏的：宿主细胞每分裂一次，就把整合的病毒基因组的一份拷贝传递给后代细胞。

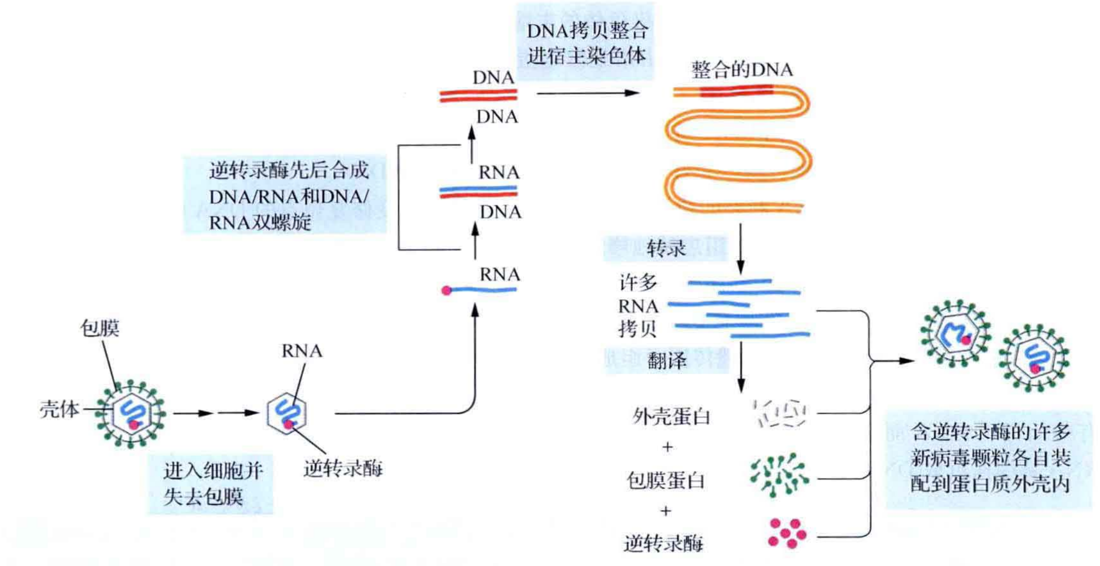


图 6-38 逆转录病毒的生活周期包括逆转录和整合到宿主基因组内。逆转录病毒基因组由一个约由 8500 个核苷酸组成的 RNA 分子组成(蓝色)。它被包裹在一个蛋白外壳内，四周包围着脂质双分子层(称为被膜)，膜内含有编码病毒的膜蛋白(绿色)。逆转录酶(红色圆圈)在病毒基因组内编码生成，并和它的 RNA 包装在一起，先合成病毒 RNA 分子的 DNA 拷贝，然后合成第二条 DNA 链，产生 RNA 基因组的双链 DNA 拷贝。然后将这个 DNA 双螺旋整合进宿主染色体，这个过程由一个编码病毒的整合酶催化。该整合过程对于利用宿主细胞 RNA 聚合酶合成新的病毒 RNA 分子是必需的。

逆转录病毒复制的下一步(可能在整合进宿主基因组很久以后才发生)是整合的病毒 DNA 由宿主细胞 RNA 聚合酶转录成 RNA，这可以产生大量和感染的基因组完全相同的单链 RNA。这些 RNA 分子然后由宿主细胞机器翻译产生蛋白质外壳、包膜蛋白和逆转录酶——所有这些和 RNA 基因组一起装配成新的病毒颗粒。

引起艾滋病的人类免疫缺陷病毒(HIV)就是一个逆转录病毒。和其他逆转录病毒一样，HIV 基因组可在感染细胞的染色体上以 DNA 原病毒形式长期处在潜伏状态。病毒这种隐藏在宿主细胞中的能力使得试图用抗病毒药物治疗病毒感染变得很困难，不过由于 HIV 逆转录酶对细胞没有任何用处，它成为抗艾滋病药物开发的主要对象。

基本概念

- 在混乱的环境中，细胞维持自身规律的能力依赖于精确复制其 DNA 携带的数量庞大的遗传信息。
- DNA 两条链均可作为模板以合成另一条链。因此 DNA 双螺旋中的两条链分别携带相同的信息。
- DNA 分子的复制以如下方式完成，即利用 DNA 双螺旋的原来的链为模板合成一条新的互补链，从而形成两个相同的 DNA 分子，保证了遗传信息从亲代细胞传递给子细胞以及从父母传递给后代的复制。
- DNA 分子复制时，它的两条链被拉开形成一个或多个“Y”形复制叉。DNA 聚合酶位于复制叉上，在每条亲链上生成一条新的 DNA 互补链。
- DNA 聚合酶以高保真性复制 DNA 模板，其差错率低于每 10^7 个碱基出一次差错。聚合酶在沿 DNA 移动时能消除自身的聚合错误，这一校读过程很大程度上保证了这种精确性的实现。

- DNA 聚合酶只能朝一个方向合成新的 DNA，所以在复制叉处，只有前导链能以连续方式复制。后随链的 DNA 以一种"回针缝合"的非连续过程合成 DNA 短片段，然后由 DNA 连接酶将其连接起来完成 DNA 链。
- DNA 聚合酶不能从头开始创始新的 DNA 链。DNA 的合成是由名为引物酶的 RNA 聚合酶启动的。引物酶先合成短片段的 RNA(引物)随后由 DNA 聚合酶将其延长。这些引物随后被清除并代之以 DNA。
- DNA 复制需要多种蛋白质的协同作用，这些蛋白质形成一个多酶聚合体——复制机器，催化 DNA 合成。
- 在真核生物中，一种称为端粒酶的特殊酶在染色体的末端合成 DNA。
- 被 DNA 复制机器忽略的极少数复制差错，由错配修复蛋白来处理。包括错配修复在内，DNA 复制的总体精确度可达到每 10^9 个核苷酸出错一次。
- 由不可避免的化学反应所造成的 DNA 损伤由多种酶来修复，它们识别损伤的 DNA，切除一小段包含损伤的 DNA 链，随后 DNA 修复聚合酶以完好链为模板，重新合成丢失的 DNA。
- 非同源末端连接允许双链 DNA 断裂的快速修复，这一过程经常会改变修复位点的 DNA 序列。
- 利用同源染色体序列为引导，同源重组忠诚地修复双链 DNA 的断裂。减数分裂过程中，相应的同源重组过程导致遗传信息的交换，产生携带新序列的 DNA 分子。
- 可移动的遗传因子，或转座子，在宿主基因组内从一个地方移到另一个地方，为遗传变异提供了来源。
- 将近一半的人类基因组由可移动的遗传因子组成。其中有两类因子已扩增为很高的倍数。
- 病毒是包装在蛋白质保护外壳中的基因。它们必须在宿主细胞内才能繁殖。
- 有些病毒以 RNA 而不是 DNA 作为它们的基因组。一组 RNA 病毒——逆转录病毒——复制时必须把 RNA 基因拷贝成 DNA。

关键词

DNA 复制	端粒酶	后随链	逆转录转座子	转座子
DNA 聚合酶	非同源末端连接	可移动的遗传因子	前导链	
DNA 修复	复制叉	模板	同源重组	
RNA(核糖核酸)	复制起始位点	逆转录病毒	突变	
病毒	冈崎片段	逆转录酶	校读	

问题

问题 6-1 仔细看图 6-9 中的显微照片。

A. 利用比例尺，估算复制叉之间 DNA 链的长度。从左边开始，按序列给复制叉编号，经过多长时间后，4 号和 5 号复制叉以及 6 号和 7 号复制叉，会相互碰撞在一起？（记住，DNA 碱基之间距离是 0.34 nm，真核生物中复制叉每秒钟移动约 100 个核苷酸的距离。）就本题而言，可忽略核小体并且假设 DNA 是完全伸展的。

B. 果蝇的基因组大小约为 1.8×10^8 个核苷酸对。显微照片中显示了果蝇基因组的几分之几？

问题 6-2 讨论这一陈述："引物酶是一种粗心大意的酶，它产生了许多错误。它合成的 RNA 引物最终要被高保真的聚合酶合成的 DNA 所替代，这会造成很大的浪费。如果最初就由 DNA 聚合酶合成一份精确的拷贝，能量会得到更有效的利用。"

问题 6-3 细胞内的一个基因编码参与 DNA 复制的蛋白质因突变而失活。在没有这种蛋白质的情况下，细胞还想 DNA 复制。如果下列蛋白质之一消失，将会产生什么样的 DNA 产物？

A. DNA 聚合酶；

B. DNA 连接酶；

C. DNA 聚合酶的滑动夹钳；

D. 清除 RNA 引物的核苷酸；

E. DNA 解旋酶；

F. 引物酶。

问题 6-4 讨论下列陈述:"修复脱嘌呤与脱氨基损伤的 DNA 修复酶,一定优先识别新合成的 DNA 链上的这些损伤。"

问题 6-5 逆转录酶在以 RNA 为模板合成 DNA 时并没有纠错能力。你认为这对于艾滋病的治疗有什么后果?

问题 6-6 DNA 错配修复酶以原 DNA 链为模板,优先修复新合成的 DNA 链上的碱基。如果不考虑以哪条链为模板就简单地进行修复错配,这样能减少复制错误吗?请解释你的答案。

问题 6-7 修复嘌呤碱基丢失的 DNA 损伤需要一种酶,假设一种突变影响了这种酶。这一突变使你的每一个细胞 DNA 每天累积 5000 个突变。人与黑猩猩之间的 DNA 序列的平均差异约为 1%,那么多长时间以后你将会变成一只猿?这一说法有什么错误?

问题 6-8 下列哪些陈述是正确的?解释你的答案。

A. 细菌的复制叉是非对称的,因为它包含了两个结构上不同的 DNA 聚合酶。

B. 冈崎片段被一种降解 RNA 的核酸酶去除。

C. DNA 修复的差错率可被 DNA 聚合酶的校读功能和 DNA 错配修复所降低。

D. 如果没有 DNA 修复,基因是不稳定的。

E. 由脱氨反应生成的异常碱基,没有一种自然发生在 DNA 中。

F. 癌症可能起源于体细胞内突变的积累。

问题 6-9 在人体细胞内,复制叉处 DNA 复制的速度约为 100 个核苷酸/s。如果一个人体细胞要在 24 h 内复制其 DNA,最少需要有多少个复制起始位点?记住人体细胞含有人基因组的两份拷贝,一份来自父亲,一份来自母亲,每份由 3×10^9 个核苷酸对组成。

问题 6-10 仔细观察图 Q6-10 中化合物的结构。两者之一被加到 DNA 复制反应中。

A. 如果化合物 A 的浓度大大超过可用的脱氧胞嘧啶三磷酸(dCTP),你认为将会发生什么?

B. 如果化合物 A 的浓度是 dCTP 的 10%呢?

C. 相同情况下,加入 B 会有什么效果呢?

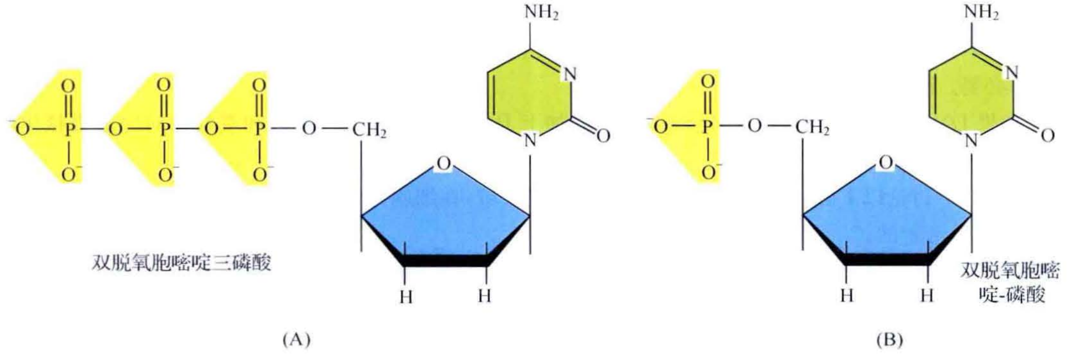


图 Q6-10

问题 6-11 一种假设生物的遗传物质在结构上与常规的 DNA 是不可区分的。令人惊奇的是,分析表明这种 DNA 是由含游离的 5′羟基基团和 3′位置有三磷酸基团的三磷酸核苷所合成。这种生物的 DNA 聚合酶与正常细胞的比较,哪些方面必定是不同的?它还能有校读功能吗?

问题 6-12 图 Q6-12 展示了一个复制叉的快照,其中 RNA 引物刚被置于后随链上。以此图为指导,画出下一个冈崎片段合成时 DNA 的路径草图。正确指出滑动夹钳和单链结合蛋白。

问题 6-13 复制一个细菌的染色体大约要用多少高能键?与细菌自身 10～12 g 的干重相比,它要消耗多少葡萄糖以提供足够的能量来复制一次 DNA?细菌染色体的碱基对数为 3×10^6。一个葡萄糖分子氧化产生约 30 个高能磷酸键,葡萄糖的摩尔质量是 180 g/mol(记住图 2-3 1 mol 由 6×10^{23} 个分子组成)。

问题 6-14 下面的陈述有错吗?若有,请指出并解释你的答案。"生殖细胞和体细胞 DNA 的稳定对于一

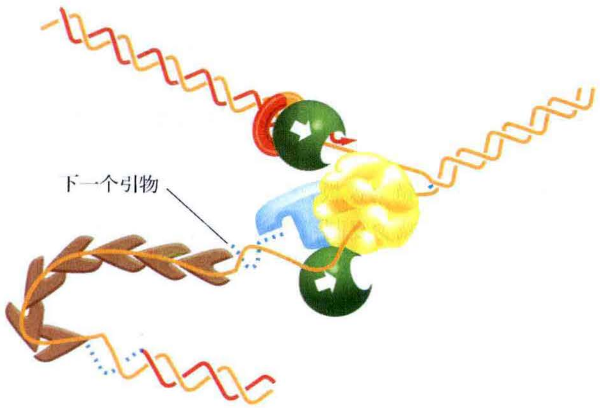


图 Q6-12

种物种的生存都是至关重要的。”

问题 6-15 一种 DNA 常见的差错是由名为脱氨的自发反应产生的，在这种反应中，一个核苷酸碱基丢失了一个氨基基团，并代之以一个酮基(C=O)，图 Q6-15 示意这一基本反应。写出碱基 A、C、G、T 和 U 的结构，预测它们的脱氨反应产物是什么？仔细观察这种反应的产物，并且记住在细胞内它们要被识别和修复，你能提出 DNA 不能含有尿嘧啶的合理解释吗？

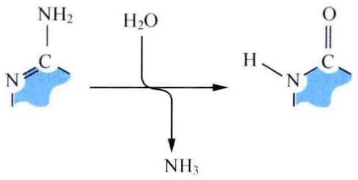


图 Q6-15

问题 6-16 A. 请解释为什么端粒和端粒酶对真核生物染色体的复制是必要的，但对环状的细菌染色体的复制则非必要。画图说明你的解释。

B. 如果 DNA 引物酶总是在后随链模板 3′端处加上 RNA 引物，你认为端粒和端粒酶对完成真核生物染色体的复制还是必要的吗？

问题 6-17 讨论以下陈述：“病毒存在于生命的模糊区域：在细胞外，它们只是死了的分子集合；然而在细胞内，它们却是活着的。”

问题 6-18 许多转座因子通过如图 6-33 和图 6-34 所示的复制机制在基因组内移动。因此每次转座时在基因组中的拷贝数都有增加。尽管单独的转座事件并不多见，但在基因组中却发现许多转座子有多份拷贝。你认为是什么原因使转座子遍布于它们的宿主基因组？

问题 6-19 描述有可能产生的后果，如果一条染色体：

A. 只有一个复制起始位点

① 正好在染色体中间

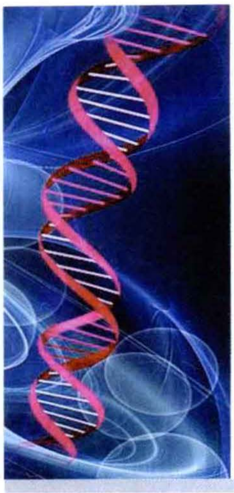
② 在染色体的一端

B. 少了一个或两个端粒

C. 没有着丝粒

假设染色体的长度为 1.5 亿个核苷酸对，即典型的动物染色体长度，并且动物细胞中的 DNA 复制速度大约为 100 个核苷酸/s。

（顾婷玉　译）



7

7.1 从 DNA 到 RNA
7.2 从 RNA 到蛋白质
7.3 RNA 和生命起源

从 DNA 到蛋白质：细胞如何阅读基因组

在 20 世纪 50 年代早期确定了 DNA(脱氧核糖核酸)的结构以后，人们就清楚地意识到细胞中的遗传信息是由 DNA 的核苷酸序列编码。我们在第 6 章已经看到，遗传信息如何通过 DNA 的复制过程以不变的形式从一个细胞传递给子代。但是细胞是如何解译并利用这种信息的呢？用四字母表——DNA 中 4 种不同的核苷酸——写成的遗传指令如何指导细菌、果蝇或人类的形成？即便对于最简单的单细胞细菌而言，储存于生物基因中的信息如何指导它们的生成，仍有许多内容有待研究，更不用说它如何指导复杂的多细胞生物(如人类)的发育了。好在 DNA 密码本身已被破译，因此 DNA 语言是可读的。

在 DNA 密码被破译之前，人们已经知道遗传信息以某种方式指导蛋白质的合成。蛋白质是细胞的主要成分，不仅决定细胞结构还决定其功能。在前面的章节中，我们已经谈到一些蛋白质，它们是细胞可以产生的几千种蛋白质中的一部分。我们在第 4 章中已经看到，蛋白质分子的特性和功能由构成其多肽链的不同的氨基酸亚基的线性序列所决定：每种蛋白质有它自己独特的氨基酸序列，该序列指令多肽链折叠成为有独特的形状和化学特性的蛋白质分子。因此 DNA 携带的遗传指令决定蛋白质中氨基酸序列的专一性。我们将在本章中看到这种专一性是如何被精确地实现的。

DNA 并不是由它自身来指导蛋白质合成的，而是更像一位经理，将各种任务分派给一组工人。当细胞需要某个特别的蛋白质时，染色体上长长的 DNA 分子的一部分核苷酸序列首先拷贝成另一类核酸——RNA(核糖核酸)，与这些短 DNA 片段对应的 RNA 拷贝作为指导蛋白质合成的模板。在我们体内的每个细胞内，每时每刻都有数千次由 DNA 至蛋白质的转变发生。因而遗传信息的流向是从 DNA 到 RNA 再到蛋白质(图 7-1)。从细菌到

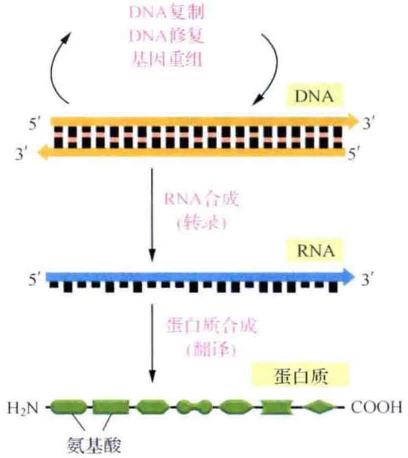


图 7-1 遗传信息指导蛋白质的合成。所有活细胞中遗传信息的传递流程是从 DNA 到 RNA(转录)，再从 RNA 到蛋白质(翻译)。

人类的所有细胞都以这种方式表达遗传信息，这一基本原则称作分子生物学的中心法则。

本章的主要任务是解释下述机制，即细胞将 DNA 拷贝成 RNA(这一过程叫转录)，随后利用 RNA 上的信息合成蛋白质(这一过程称为翻译)。同样我们将介绍在这个基础框架内发生的一些重要变化，主要是 RNA 剪接，即在真核细胞将一部分核苷酸序列翻译成蛋白质之前，一个切割及缝合 RNA 的过程。这些变化可以改变 RNA 分子所传达的信息，因此了解细胞如何解码基因组至关重要。在本章的最后部分，我们将讨论现有信息的储存、转录，以及翻译系统是怎样从最早阶段细胞中的简单形式进化而来的。

7.1 从 DNA 到 RNA

转录和翻译是细胞解读或者说表达它们的遗传指令——基因的方式。同一个基因可以产生多个相同的 RNA 拷贝，而每个 RNA 分子又能指导多个相同的蛋白质分子的合成。通常一个细胞内的任一特定基因只有一份拷贝，因此与 DNA 自身作为指导蛋白质合成的模板相比较，上述的连续扩增形式使细胞能以快得多的速率合成所需数量的蛋白质。在相同的时间内，每种基因能以不同的效率被转录和翻译，这使得细胞在大量合成某种蛋白质的同时，也能少量地合成其他蛋白质(图 7-2)。此外，正如我们将要在第 8 章所看到的，一个细胞能根据某一时刻的需要，改变(或称为调控)它的每种基因的表达。在本节中，我们将讨论 RNA 的合成，即基因表达的第一步。

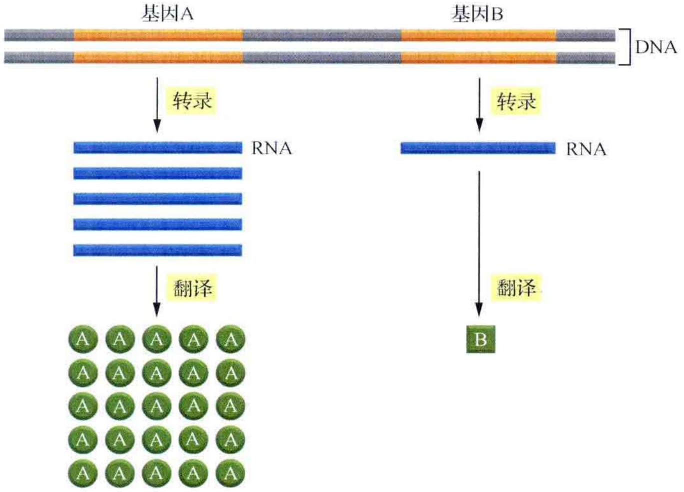


图 7-2 不同基因的表达效率各不相同。基因 A 的转录和翻译效率远远高于基因 B，导致细胞内蛋白 A 存在的数量远远高于蛋白 B。该图及其以后出现的图中，DNA 上的灰色部分表示为非转录 DNA。

7.1.1 部分 DNA 序列转录成 RNA

细胞解读其部分遗传指令的第一步是在成千上万个基因中将一个基因——一部分 DNA 核苷酸序列基因——拷贝成 RNA 核苷酸序列，这一过程叫**转录**。尽管信息被拷贝成不同的化学形式，本质上它仍然由相同的语言——核苷酸语言写成。像 DNA 一样，**RNA** 也是一种线性多聚体，由 4 种不同的核苷酸亚基通过磷酸二酯键连接而成(图 7-3)。在化学性质上，它与 DNA 在两方面不同：①RNA 内的核苷酸是核糖核苷酸，也就是说，它们含有核糖(因此称为核糖核酸)而不是脱氧核糖；②尽管和 DNA 一样，RNA 包含的碱基有腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)和胞嘧啶(C)，但没有 DNA 中的胸腺嘧啶(T)，而是代之以尿嘧啶(U)。由于 U 像 T 一样能通过氢键作用与 A 碱基配对(图 7-4)，在第 5 章中描述过的 DNA 碱基互补配对特性同样适用于 RNA。

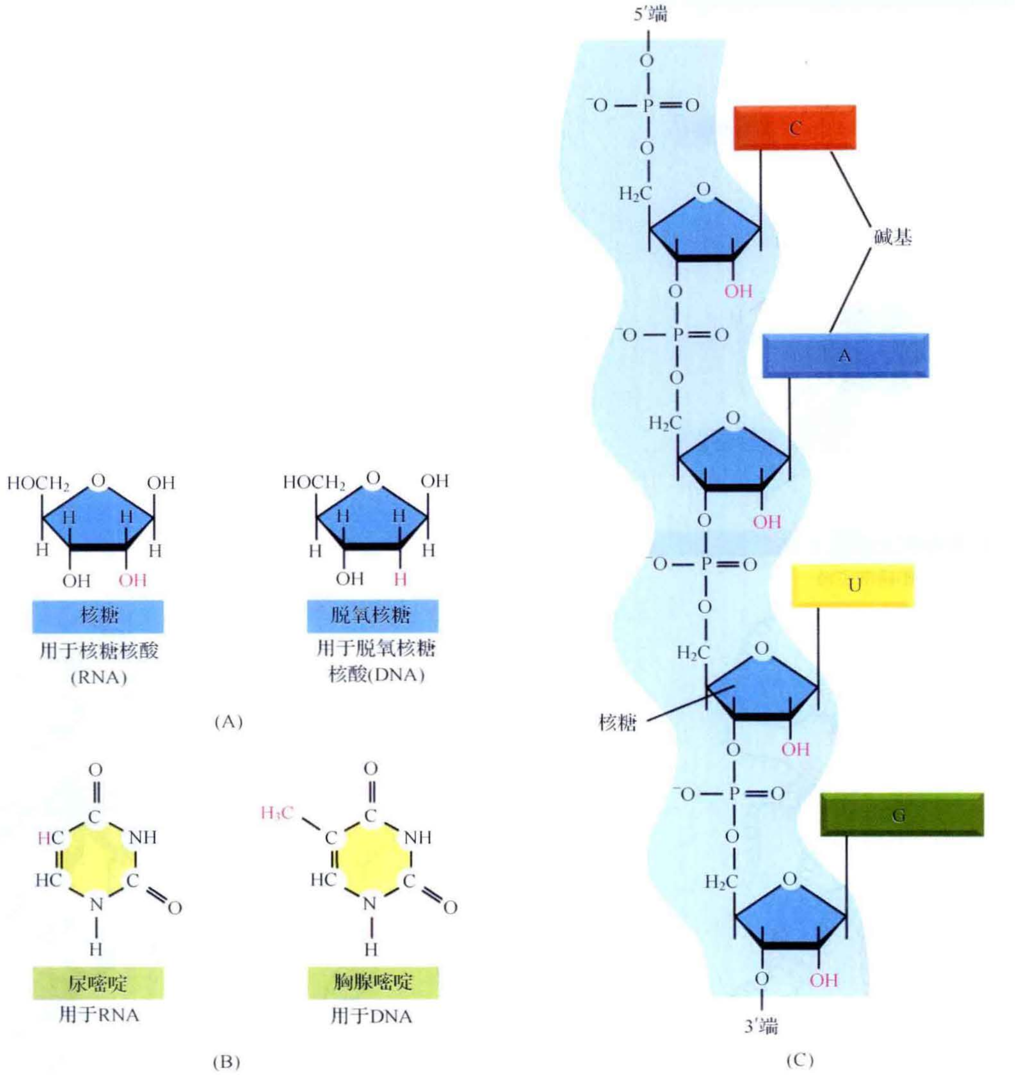


图 7-3 RNA 的化学结构与 DNA 有略微差异。(A)RNA 含有核糖,而 DNA 不同于 RNA,含有脱氧核糖。核糖比脱氧核糖多出一个羟基。(B)RNA 含有尿嘧啶,而在 DNA 中对应的碱基是胸腺嘧啶。尿嘧啶和胸腺嘧啶的区别在于尿嘧啶缺少一个甲基。(C)RNA 内核苷酸之间的化学连接方式和 DNA 是一致的,不过在长度上,RNA 比 DNA 短。

尽管 DNA 与 RNA 的化学差异很小,但二者的总体结构相差甚大。与 DNA 在细胞内总是以双螺旋存在的形式相反,RNA 是单链的。这种差异具有重要的功能。正如一条多肽链经折叠形成最终的蛋白质形状一样,RNA 链可以折叠成各种形状(图 7-5);双链 DNA 不能像单链 RNA 般折叠。稍后我们将在本章中看到,RNA 通过折叠形成复杂的三维结构使它除了在 DNA 和蛋白质之间输送信息外,还能执行其他功能。与 DNA 单纯储存信息的功能不同,RNA 具有多种功能,有的可以作为结构组分,有的甚至具备催化能力。

7.1.2 转录产生与一条 DNA 链互补的 RNA

细胞内所有的 RNA 均由转录产生,这一过程与 DNA 复制(在第 6 章已讨论过)有一定的相似性。转录起始于一小部分 DNA 双螺旋的打开并解旋,从而暴露出每条 DNA 链上的碱基。DNA 双螺旋的一条链作为 RNA 合成的模板,RNA 链由核苷酸一个接一个的加入而不断增

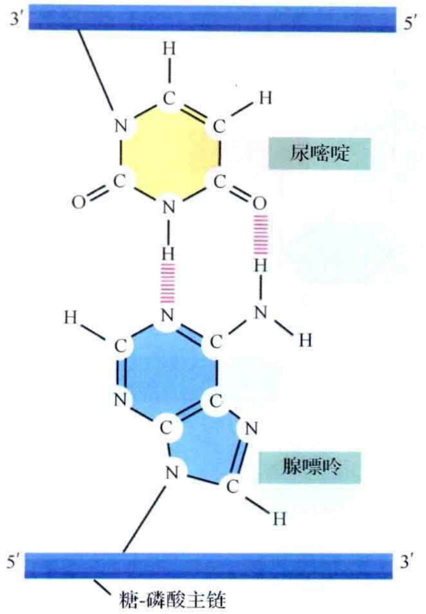


图 7-4 尿嘧啶与腺嘌呤形成一个碱基对。尽管尿嘧啶比胸腺嘧啶少一个甲基，尿嘧啶具有与胸腺嘧啶相同的碱基配对性质。因此，U-A 碱基对非常类似于 T-A 碱基对(图 5-6A)。

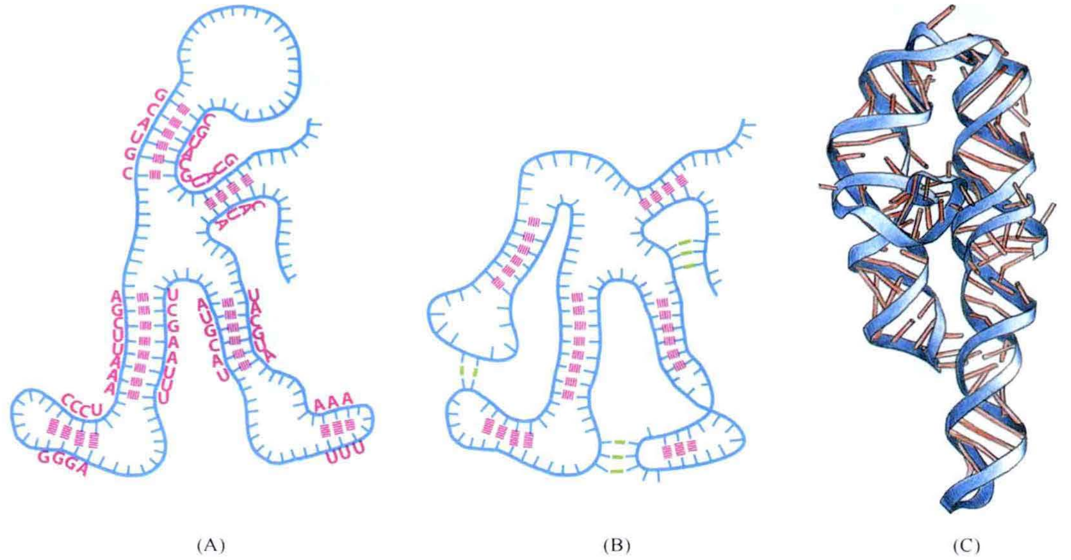


图 7-5 RNA 分子能够形成分子内的碱基配对，进而折叠成特殊的结构。RNA 是单链分子，但是它经常包含能让同一分子内两个不同区域的 RNA 片段形成互补碱基对的短片段。这些相互作用，连同“非常规”碱基对相互作用一起，使 RNA 分子折叠成由其核苷酸序列决定的三维立体结构。(A)图 A 所示的是假定在只有常规(换句话说，Watson-Crick)碱基配对相互作用下折叠出的 RNA 结构；(B)在与(A)相同的假设结构上，同时具有常规(红)和非常规(绿)(例如，A-G)碱基对相互作用；(C)RNA 剪接的真实的 RNA 分子结构。每个常规碱基对相互作用用双螺旋“阶梯”表示，其他构型的碱基用断掉的“阶梯”表示。关于 RNA 结构的其他图像，见视频 7.1。

长，就像 DNA 复制一样，加入的核糖核苷酸与 DNA 模板间的互补碱基配对决定 RNA 链上的核苷酸序列。当加入的核糖核苷酸能形成最佳配对时，就可在酶促反应中共价连接到增长的 RNA 链上。因此转录产生的 RNA 链——*转录物*——一次延伸一个核苷酸，并且与作为模板的 DNA 链的核苷酸序列互补(图 7-6)。

但在几个重要方面，转录与 DNA 复制不同。与新形成的 DNA 链不一样，RNA 链不与模板 DNA 链以氢键相结合。相反，紧挨着核糖核苷酸掺入区域的后面，RNA 链被移开而 DNA

螺旋重新形成。由于只有一条 DNA 分子链被转录，所以 RNA 分子为单链。此外，由于 RNA 是从有限的 DNA 区域拷贝而成的，因此它们要比 DNA 分子短很多。与人类染色体 DNA 分子可长达 2.5 亿个核苷酸对不同，大部分 RNA 分子不超过几千个核苷酸，甚至更短。

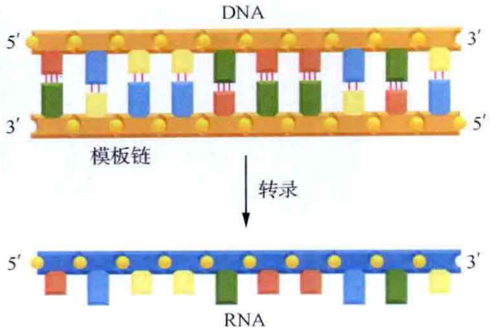


图 7-6 转录产生的 RNA 和 DNA 中的一条链互补。DNA 中的非模板链（在此例子中为顶部那条链）有时被称为编码链，因为其序列同 RNA 产物一致。

执行转录的酶叫 **RNA 聚合酶**。正如催化 DNA 复制的 DNA 聚合酶一样（在第 6 章已讨论过），RNA 聚合酶催化核苷酸之间形成磷酸二酯键并合成 RNA 的糖-磷酸主链。RNA 聚合酶沿着 DNA 一步步移动，在其前方解开 DNA 螺旋，暴露模板链的一段新区域以便进行碱基互补配对。RNA 链以这种方式沿 5′→3′ 方向增长，一次延伸一个核苷酸（图 7-7），RNA 聚合酶利用三磷酸核苷（ATP、CTP、UTP 和 GTP）中的高能键提供了驱动反应向前所需的能量（图 6-10）。

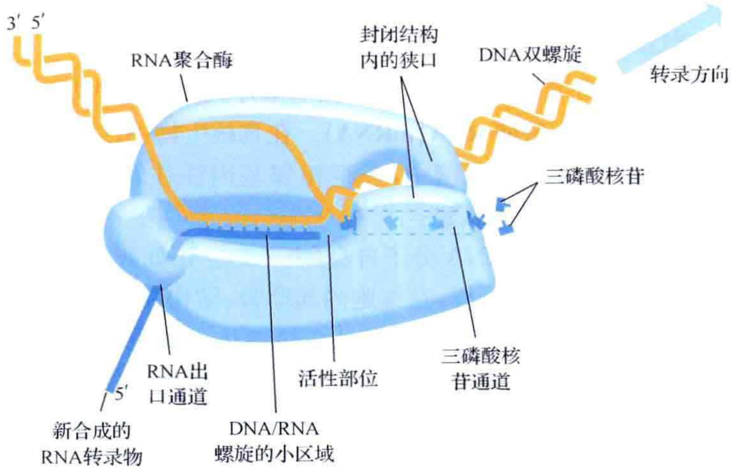


图 7-7 DNA 通过 RNA 聚合酶转录。RNA 聚合酶（浅蓝）沿着 DNA 逐步移动，松开其前面的 DNA 螺旋。RNA 聚合酶在前进的过程中，利用暴露出的 DNA 链作为模板，在聚合点逐一添加核苷酸（小"T"形）到 RNA 链上。因此，这样转录产生的 RNA 是单链的，而且和 DNA 双链中的一条链互补。在聚合酶沿着 DNA 模板向前移动时，它移开新合成的 RNA，让 DNA 双链在聚合酶后面重绕。因此一小片 DNA/RNA 杂交螺旋（大约有 9 个核苷酸长）区域会暂时形成。连同聚合酶一起，这个 DNA/RNA 螺旋的"窗口"沿着 DNA 向前移动（视频 7.2）。

RNA 链在被合成的同时立即从 DNA 链上解离，这意味着同一基因在较短时间内可以合成多份 RNA 拷贝，下一个 RNA 分子的合成在前一份 RNA 拷贝完成前就已经开始了（图 7-8）。对于一个中等大小的基因（如 1500 核苷酸对），一个 RNA 聚合酶需要 50 s 的时间来转录（视频 7.2）。在任何特定时间内，在同一段 DNA 上可能有 15 个聚合酶分子在快速行进，它们接踵而至，在 1 h 内从同一个基因合成上千份转录物。然而对于大部分基因而言，转录量比这要少得多。

尽管 RNA 聚合酶与 DNA 聚合酶催化基本上相同的化学反应，但两者还是有重要的差别。首先，而且最显而易见的是 RNA 聚合酶催化核糖核苷酸，而非脱氧核糖核苷酸之间的连接；其次，与参与 DNA 复制的 DNA 聚合酶不一样，RNA 聚合酶不需要引物即能起始一条 RNA 链。

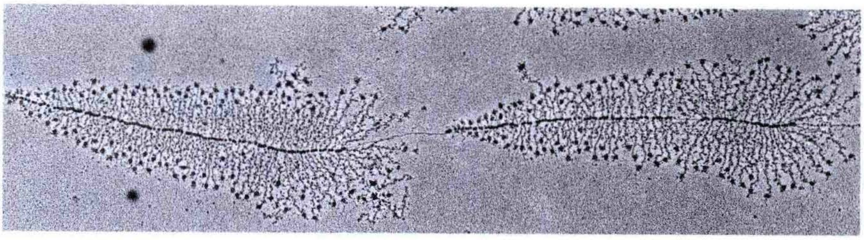


图 7-8 转录可以在电子显微镜下观察到。显微照片显示出许多 RNA 聚合酶分子同时转录两个相邻的基因。RNA 聚合酶分子看起来像是顺着 DNA 的一系列圆点，转录物(细线)连接其上。在这个例子中，从基因中转录出的称为 rRNA 的 RNA 分子不翻译成蛋白质，而是直接作为核糖体——翻译机器的组成部分。每个 rRNA 转录物的 5′端(自由端)上的微粒被认为是附着在 rRNA 上的核糖体蛋白。(蒙 Ulrich Scheer 惠许)

这种差异得以存在是由于转录并不需要像 DNA 复制一样精确。因为在细胞内，RNA 并不用作遗传信息的永久储存形式。RNA 聚合酶大约每拷贝 10^4 个核苷酸致 RNA 链出错一次，而 DNA 聚合酶大约每 10^7 个核苷酸出错一次。

7.1.3 细胞内产生几种类型 RNA

一个细胞内携带的大部分基因决定蛋白质的氨基酸序列。从这些基因拷贝而来并最终指导蛋白质合成的 RNA 分子称为**信使 RNA(mRNA)**。在真核生物中，通常只从一个基因转录一种 mRNA，编码单一的蛋白质，而在细菌中，一组相邻基因往往转录成单一的 mRNA，因此 mRNA 上携带了几种不同的蛋白质的信息。

而其他基因的最终产物就只是 RNA 分子自身(表 7-1)。正如我们将在本章后面部分中看到的，这些非信使 RNA 就像蛋白质一样，在细胞内起监督、结构和酶活性组分的作用。核糖体 RNA(rRNA)形成核糖体的核心，而 mRNA 正是在核糖体上被翻译成蛋白质的；转运 RNA(tRNA)形成连接物分子，它们选择氨基酸并将其固定于核糖体以便掺入蛋白质。其他小分子 RNA 称为小 RNA(miRNA)，起着调节真核生物基因表达的重要作用，我们将在第 8 章讨论。

表 7-1 细胞内产生的 RNA 种类

RNA 种类	功能
mRNA	编码蛋白质
rRNA	形成核糖体的核心并且催化蛋白质合成
miRNA	调节基因表达
tRNA	蛋白质合成中作为 mRNA 与氨基酸之间的连接物
其他小 RNA	用于 RNA 剪切、维护端粒及其他细胞过程

在最广泛的意义上说，**基因表达**是指将 DNA 序列中编码的信息翻译成某一有生物学效应产物的过程。在有些情况下，某基因的最终产物是一种蛋白质，此时基因表达包括转录和翻译；当 RNA 分子是基因的最终产物时，基因表达则不需要翻译。

7.1.4 DNA 上的信号指示 RNA 聚合酶在何处起始和结束

由于细胞可以选择转录或翻译何种 RNA 和蛋白质并且可以掌控其表达量，所以转录起始是一个特别重要的过程。为了开始转录，RNA 聚合酶必须能识别基因的起始处，并于该位点与

DNA 牢固地结合。在原核生物(细菌)和真核生物中,RNA 聚合酶识别转录起始位点的方式不一样。在细菌中的情形要简单一些,我们首先来看细菌的转录起始。

当 RNA 聚合酶与 DNA 片段发生随机碰撞时,聚合酶倾向于微弱地附着在 DNA 上,随后,聚合酶分子沿着 DNA 快速滑动。而当聚合酶一旦遇到称为**启动子**的特定区域,就会牢固地结合于 DNA 上。在启动子处,含有指示 RNA 合成起始位点的核苷酸序列。一旦 RNA 聚合酶与启动子 DNA 发生接触并牢固结合后,随即打开其正前方的双螺旋,使 DNA 两条链的一小段核苷酸暴露(图 7-9)。两条暴露的 DNA 链的其中一条作为模板,与进入的核糖核苷酸形成互补碱基配对,两个核糖核苷酸由聚合酶连在一起即开始了 RNA 链的合成。RNA 链的延伸持续进行,直到聚合酶遇到 DNA 上的第二个信号——终止子(终止信号),RNA 聚合酶停止前进,并释放 DNA 模板和新合成的 RNA 链(图 7-9)。

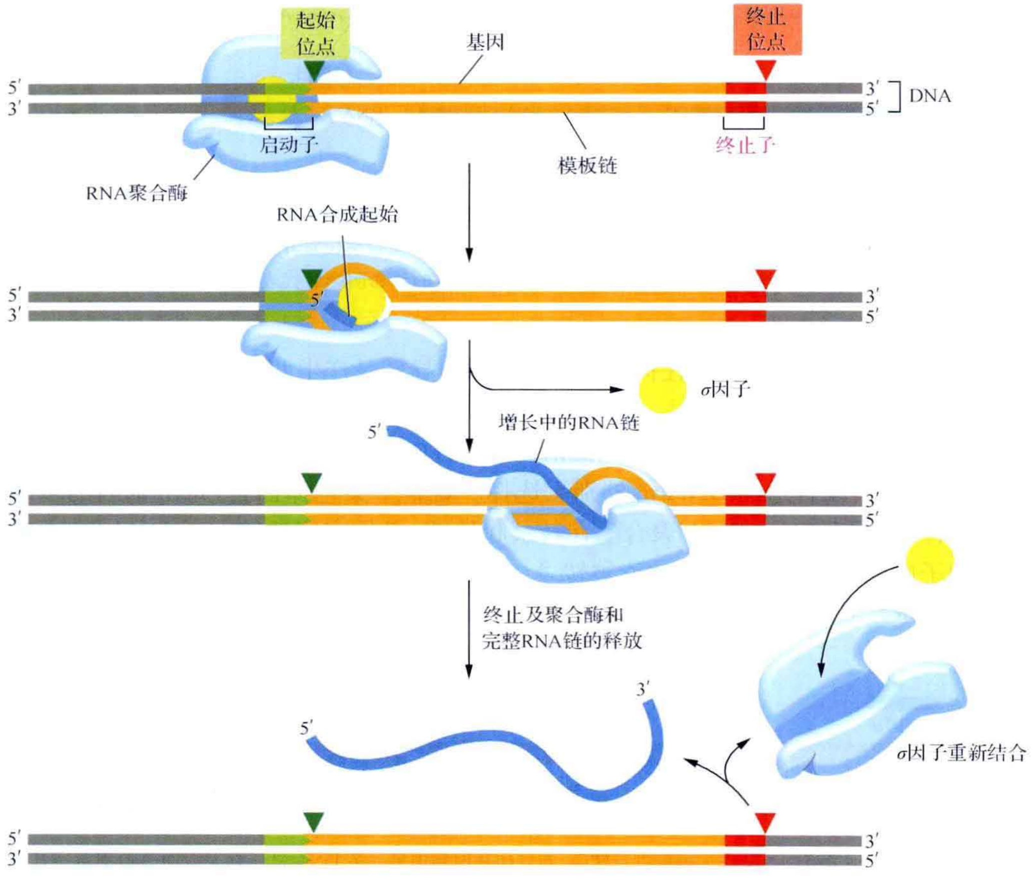


图 7-9 基因序列上的信号指示细菌 RNA 聚合酶起始和终止转录的位点。细菌 RNA 聚合酶(淡蓝)包含一个能够识别 DNA 上启动子(绿色)的 σ 因子亚基(黄色)。一旦转录开始,σ 因子就被释放,聚合酶在没有此因子的情况下连续合成 RNA。RNA 链连续延长直到聚合酶遇到 DNA 上的终止信号(红色)。聚合酶在此止步,释放 DNA 模板和新合成的 mRNA。然后,聚合酶再次和游离的 σ 因子聚合,搜寻下一个启动子,重新开始以上过程。

σ 因子是细菌 RNA 聚合酶的一个亚基,主要负责识别 DNA 上的启动子序列。一旦聚合酶在启动子位点固着于 DNA 并合成了约 10 个核苷酸的 RNA 后,σ 因子即被释放,使聚合酶向前移动并在没有它的情况下继续转录。聚合酶在终止子处被释放后,与自由的 σ 因子结合并搜寻启动子,在启动子处重新开始转录过程。

尽管 DNA 是双螺旋，聚合酶仍然能通过与暴露于螺旋外的部分碱基之间特异地接触识别这一段序列。典型的启动子和终止子的核苷酸序列在图 7-10 中介绍。

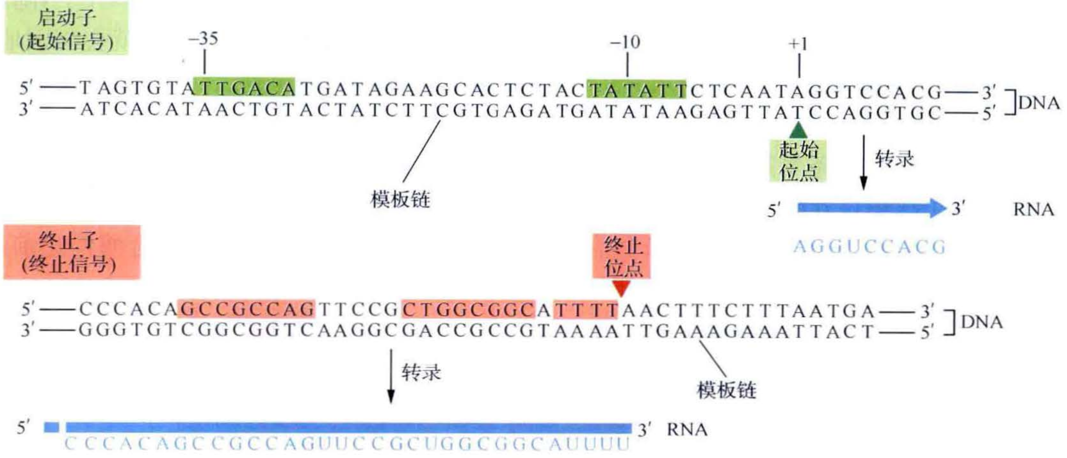


图 7-10　细菌启动子和终止子拥有特殊的核苷酸序列，可以让 RNA 聚合酶识别它。图表顶部的绿色阴影区代表启动子 DNA 序列。数字代表从第一个被转录的核苷酸算起的核苷酸的位置，第一个被转录的核苷酸计为＋1。事实上，启动子的不对称性——例如，保守序列在－35 位，位于－10 位序列的上游——指导聚合酶位置并指导转录的方向。所有细菌启动子在－10 和－35 处的 DNA 序列与这里显示出来的极其相似。图表下方的红色阴影区代表着指示 RNA 聚合酶停止转录的 DNA 序列。

由于 DNA 是双链的，原则上任何启动子都可以引导转录产生两种不同的 RNA 分子，一种 RNA 分子的转录是从左到右，而另一种 RNA 分子是从右到左。然而，启动子是非对称的，只能以一个方向结合聚合酶；又因为转录只能沿 5′→3′方向进行，因此一旦正确定位于启动子上，RNA 聚合酶除了转录合适的 DNA 链外别无选择。就整个染色体而言，每个基因的转录方向可能是不一样的(图 7-11)。RNA 聚合酶在转录起始前，必须牢固地结合于 DNA，这意味着只有位于启动子序列后的一段 DNA 才能被转录。这确保了 DNA 分子中只有包含了基因的部分才得以转录为 RNA。

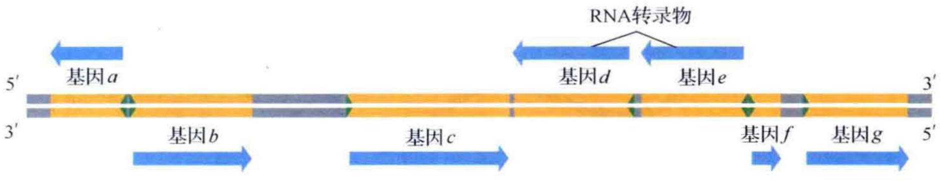


图 7-11　一些基因利用一条 DNA 链作为模板进行转录，而其他基因利用另一条 DNA 链。转录方向是根据每个基因开头的启动子的方向(绿色箭头)来确定的。以底部 DNA 链作为模板时，基因从左到右转录；那些以顶部链作为模板的基因则从右到左转录(图 7-10)。这里画出的是大约 0.2%的大肠杆菌染色体(10 000 对核苷酸)。

7.1.5　真核生物基因转录的起始是一个复杂的过程

上文所说的许多细菌转录原则同样也适用于真核生物。然而，真核生物的转录起始在几个重要方面还是不同于细菌。

第一个不同点在于 RNA 聚合酶本身。细菌只含有单一类型的 RNA 聚合酶，而真核细胞具有三种 RNA 聚合酶：RNA 聚合酶Ⅰ、RNA 聚合酶Ⅱ和 RNA 聚合酶Ⅲ。这些聚合酶负责转录不同的基因。RNA 聚合酶Ⅰ和 RNA 聚合酶Ⅲ转录编码转移 RNA、核糖体 RNA 和小 RNA

的基因，转录后的产物在细胞内承担着结构和催化作用(表 7-2)。RNA 聚合酶Ⅱ转录大多数真核基因，包括那些编码蛋白质的基因(视频 7.3)。因此，我们随后进行的讨论将集中于这种酶。

表 7-2 真核细胞中的三种 RNA 聚合酶

聚合酶种类	转录基因
RNA 聚合酶Ⅰ	大多数 rRNA 基因
RNA 聚合酶Ⅱ	编码蛋白质的基因、miRNA 基因及一些小 RNA 基因(例如，那些在剪接体里的 RNA)
RNA 聚合酶Ⅲ	tRNA 基因
	5S rRNA 基因
	许多其他小 RNA 的基因

第二个区别是，细菌 RNA 聚合酶(连同其 σ 亚基)能够独立地启动转录，而真核 RNA 聚合酶需要一大套辅助蛋白的协助。其中主要的蛋白是*通用转录因子*，在允许聚合酶转录之前，它必须和聚合酶一起聚集在启动子上。

在真核生物内，转录的第三个与原核生物不同的特点是控制转录起始的机制比原核生物更加精细，我们将在第 8 章详细讨论。在细菌内，DNA 上的基因相互之间排列得非常近，只有非常短的非转录 DNA 将它们隔开。但植物和动物，包括人类在内，个别的基因散布在 DNA 上，一个基因与下一个基因之间隔着多达 100 000 个碱基对。这种架构允许一个单一基因受到散布在 DNA 上的几乎无限数量的调控序列的控制，从而使真核生物能够运用比细菌更复杂的转录调控形式。

最后，但同样重要的一点是真核转录起始必须考虑到 DNA 包装成核小体并且进一步压紧形成染色质结构，我们将在第 8 章中描述。

我们现在把注意力放在通用转录因子，并讨论它们如何帮助真核 RNA 聚合酶Ⅱ启动转录。

7.1.6 真核 RNA 聚合酶需要通用转录因子

人们最初发现，不像细菌的 RNA 聚合酶，纯化后的真核 RNA 聚合酶Ⅱ在体外无法自行启动转录。这致使人们发现并纯化出**通用转录因子**。这些辅助蛋白聚集在启动子上，帮助 RNA 聚合酶定位，拉开双螺旋暴露出模板链，启动 RNA 聚合酶，开始转录。

图 7-12 说明了通用转录因子是如何同 RNA 聚合酶Ⅱ聚集在启动子上的。典型的聚集过程从通用转录因子 TFIID 结合到主要由 T 和 A 核苷酸组成的 DNA 短双螺旋序列开始；鉴于这个序列的组成成分，它被称为 TATA 序列或者 TATA 框。在与 DNA 结合后，TFIID 引起了局部 DNA 的变形(图 7-13)，并作为一种标识促进后续的其他蛋白质集结在启动子上。TATA 框是许多靠 RNA 聚合酶Ⅱ启动转录的启动子的关键组分，它通常位于转录起始位点上游 25 个核苷酸处。一旦第一个通用转录因子结合到这个 DNA 位点上，连同 RNA 聚合酶Ⅱ在内的其他因子将一起集聚其上，形成完整的*转录起始复合物*。虽然图 7-12 说明了各种通用转录因子是按一定顺序堆积在启动子上的，而在细胞内，从一个启动子到下一个启动子，实际的集聚顺序或许各不相同。

当 RNA 聚合酶Ⅱ结合到启动子，形成转录起始复合物之后，聚合酶释放出复合转录因子来起始合成 RNA 分子。在释放过程中，一个关键步骤是磷酸基团加在 RNA 聚合酶的“尾部”，并且通过通用转录因子 TFIIH 起作用，该因子其中一个亚基为蛋白激酶(图 7-12E)。该磷酸化作用被认为是帮助聚合酶脱离群集的转录因子，从而可以开始转录。一旦转录开始，大多数通用转录因子便从 DNA 上脱离，使它们可以同新的 RNA 聚合酶分子一起启动另一个转录。

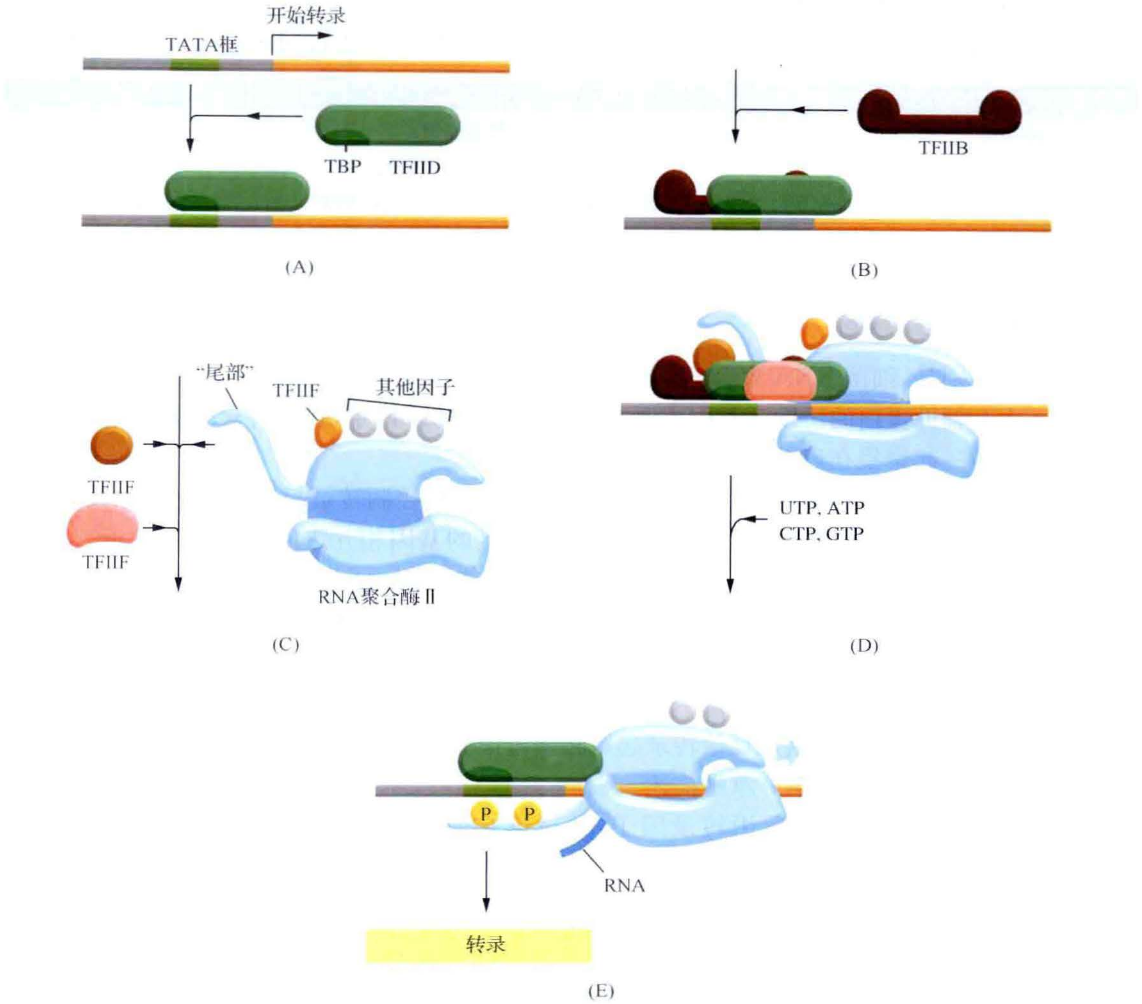


图 7-12 真核 RNA 聚合酶Ⅱ需要一系列通用转录因子来启动转录。这些转录因子称为 TFIIA、TFIIB 等。(A)许多启动子包含一个 DNA 序列，称为 TATA 框。(B)转录因子 TFIID 识别 TATA 框并与之结合，使得 TFIIB 能在邻近部位结合(C)。为简单起见，TFIID 结合到 DNA 上所导致的 DNA 变形(图 7-13)未在此处显示出来。(D)其余通用转录因子及 RNA 聚合酶本身一起聚集在启动子上。(E)然后，TFIIH 在转录起始位点处利用水解 ATP 的能量撬开双螺旋，使模板链暴露。TFIIH 还磷酸化 RNA 聚合酶Ⅱ，将它从通用转录因子中释放出来，从而可以开始进行转录延伸阶段。磷酸化的场所是一个从聚合酶分子伸出来的长长的多肽"尾部"。

当 RNA 聚合酶Ⅱ完成转录，它便从 DNA 上脱离，其尾部的磷酸基团被磷酸酶剥离，使它可以重新开始转录，只有去磷酸化的 RNA 聚合酶Ⅱ才可以在启动子上起始 RNA 合成。

7.1.7 真核 RNA 在核内同时被转录和加工

虽然在所有的生物中，DNA 作为模板转录为 RNA 的原理都一样，但在 RNA 被细胞利用之前，原核生物和真核生物处理转录物的方式却有很大差别。细菌的 DNA 直接暴露于细胞质，其中包含核糖体，而它正是蛋白质合成的场所。一旦转录生成 mRNA 分子，核糖体立即结合于 RNA 转录物的游离的 5′端，蛋白质合成也随即开始。

在真核细胞内情况则不同，DNA 是包含在核内的，转录发生于核内，而蛋白质合成则在细胞质内的核糖体上进行。所以，真核 mRNA 被翻译之前，必须通过核被膜上的小孔转运出核外

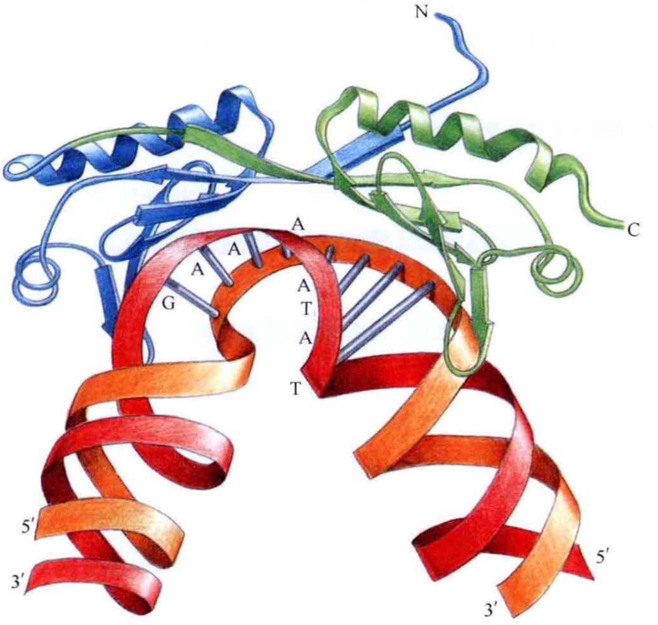


图 7-13　TATA 结合蛋白(TBP)结合到 TATA 框序列并使 DNA 变形。TBP 是通用转录因子 TFIID 的亚基负责识别 TATA 框序列(由字母表示)并与之结合。TBP 所造成的独特的 DNA 弯曲——由部分解开的 DNA 所分隔开的两个双螺旋扭结——可能有助于吸引其他通用转录因子。TBP 是多肽单链,折叠成两个非常相似的区域(蓝色和绿色),其 8 个 β 折叠片区位于 DNA 螺旋顶部,看起来像马鞍(视频 7.4)。(根据 J. L. Kim 等发表的 *Nature* 365:520-527, 1993 改写。得到 Macmillan Publishers Ltd. 的许可)

(图 7-14)。但是 RNA 在离开核之前,必须要经历不同的 **RNA 加工**步骤。这些反应发生在 RNA 正在被转录的过程中。负责对 RNA 进行加工的酶附着在真核 RNA 聚合酶的"尾部",一旦 RNA 聚合酶开始转录,这些酶也开始对 RNA 进行加工(图 7-15)。

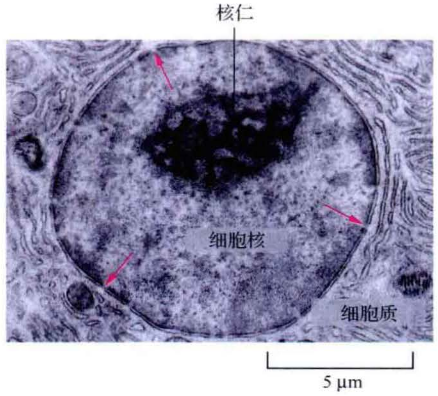


图 7-14　在翻译成蛋白质之前,细胞核内生成的 mRNA 通过核膜上的小孔(箭头)进入细胞质。这里显示的是一个肝细胞的切片。(来自于 D. W. Fawcett,组织学教材,第 11 版,Philadelphia: Saunders, 1986。得到 Elsevier 的许可)

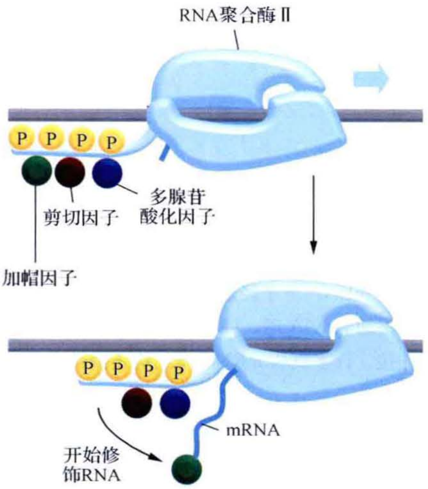


图 7-15　磷酸化的 RNA 聚合酶Ⅱ允许 RNA 加工蛋白聚集到其尾部。聚合酶不仅将 DNA 转录成 RNA,还携带着作用于新合成 RNA 的加工蛋白。当聚合酶在转录起始过程晚期时被磷酸化,一些 RNA 加工蛋白结合到 RNA 聚合酶尾部(图 7-12)。加帽、多腺苷酸化和剪切(在本章后面介绍)都是在加工过程中对 RNA 进行的修饰。

不同种类的 RNA 即 mRNA 或者其他种类的 RNA，在离开核之前以不同方式被加工。对即将成为 mRNA 分子的初级转录物而言，有两种加工过程是其特有的：RNA 加帽和多聚腺苷酸化(图 7-16)。

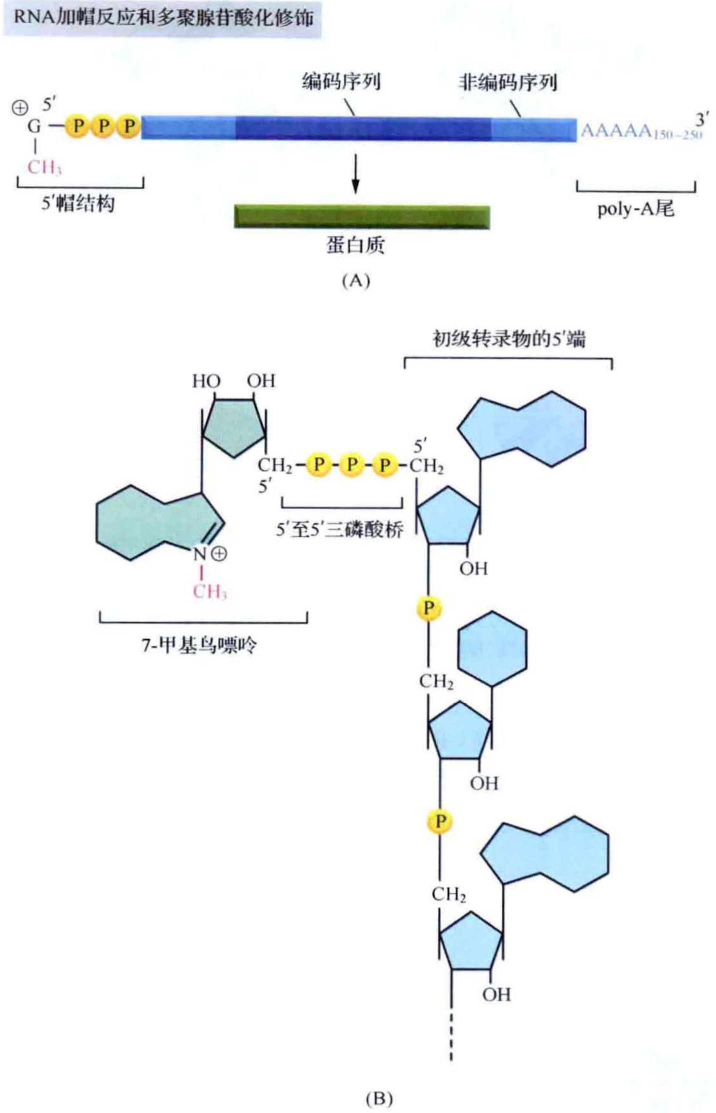


图 7-16 真核 mRNA 分子经过加帽反应和多聚腺苷酸化修饰。(A)真核 mRNA 的端部修饰：在 5′端加帽，切割原始转录本并在 3′端添加 poly-A 尾。(B)真核 mRNA 分子 5′端的帽结构。请注意这不常见的 7-甲基鸟嘌呤对其余的 mRNA 分子的 5′到 5′连接。许多真核 mRNA 帽结构还携带有其他修饰：mRNA 第二个核糖上的 2′羟基基团被甲基化(未显示)。

1. RNA 加帽修饰初级转录物的 5′端，这一端在转录过程中最先合成。5′端加帽是指加上一个不常见的核苷酸——甲基鸟嘌呤(G)。加帽反应通常发生在 RNA 聚合酶合成了大约 25 个核苷酸后，远在整个基因的转录完成之前。

2. 多聚腺苷酸化给刚转录出来的 mRNA 的 3′端提供一种特殊的结构。在细菌中，mRNA 的 3′端就是 RNA 聚合酶合成的链末端。与之相反，真核生物 RNA 的 3′端首先由一种在特定核苷酸序列处切割 RNA 的酶切除，随后第二种酶在切口加上一系列重复的腺嘌呤核苷酸(poly-A 尾)。poly-A 尾通常长达数百个核苷酸。

这两种修饰——加帽和多聚腺苷酸化被认为可以增加 mRNA 分子的稳定性并协助它从核内运往细胞质，并且一般用来确认 mRNA 分子。它们随后也被蛋白质合成机器用作一种指征，即表明 mRNA 的两个末端都存在，因而在蛋白质合成之前，mRNA 带有的信息是完整的。

7.1.8 真核基因被非编码序列所间隔

大部分真核生物 RNA 在成为功能性 RNA 前，还要经历一步加工过程。与加帽和聚腺苷酸化相比，这一步修饰的幅度要剧烈得多，它是真核生物基因一种奇妙的排列方式的结果。在细菌内，大部分蛋白质由一段无间断的 DNA 序列编码，在转录为 RNA 后无需进一步加工即可作为 mRNA 行使功能。相反，大多数真核基因的编码序列被名为**内含子**的长长的非编码序列所间隔(图 7-17)。称为**外显子**的分散的编码序列通常比内含子要短，而且一个基因的编码区只是整个基因的一部分。大多数内含子的长度从单个核苷酸到 1 万个核苷酸不等，甚至更长；一些真核基因完全缺乏内含子，另一些只有少量的内含子，但是绝大多数真核基因包含许多内含子(图 7-18)。

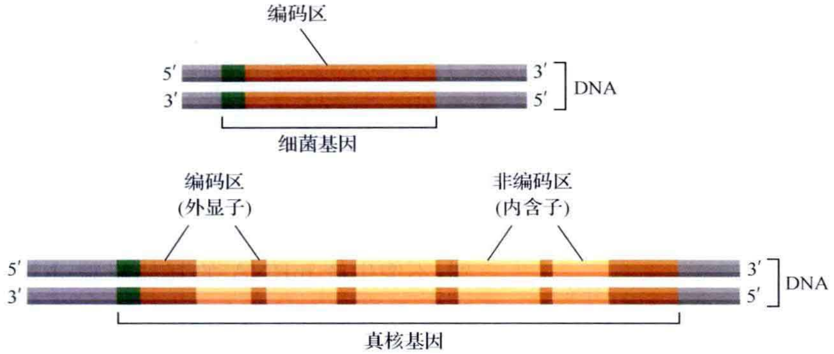


图 7-17 真核生物和细菌的基因有不同的安排。细菌基因由不间断的编码整个蛋白氨基酸序列的核苷酸链组成。与此相反，大多数真核生物基因的编码序列(外显子)被非编码序列(内含子)间隔开。转录启动子标示为绿色。

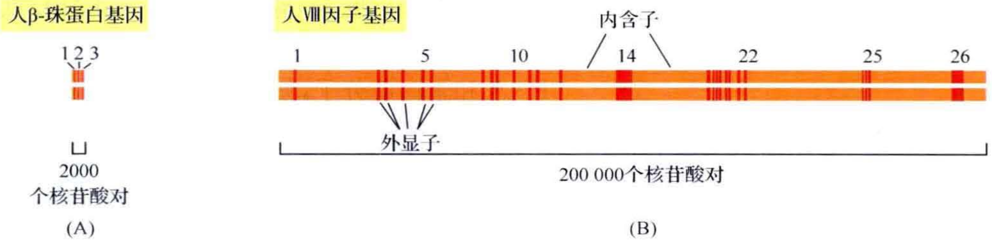


图 7-18 大多数人类基因分割为外显子和内含子。(A)编码携氧蛋白血红素的亚基之一的 β-珠蛋白基因包含 3 个外显子。(B)Ⅷ因子基因包含 26 个外显子，其编码的蛋白质在凝血通路上有作用。在这个大基因上发生的突变是造成血友病发病最常见的原因。

7.1.9 内含子由 RNA 剪接而被去除

在真核细胞中合成 mRNA 分子的过程中，整个基因，包括内含子和外显子，首先被转录为一个长的 RNA 分子。在 RNA 加帽和聚腺苷酸化后离开核之前，开始 **RNA 剪接**，所有的内含子序列被切除，外显子连接在一起。最终，每份 mRNA 加上一个 poly-A 尾；在某些情况下，加 poly-A 尾发生在 RNA 剪接之后，而在其他情况下，这发生在最后剪接完成之前。当 RNA 剪接过程结束，并且 RNA 分子的 5′和 3′端都经过修饰之后，RNA 分子就成为功能性的 mRNA，可以离开细胞核并被翻译成蛋白质。

细胞如何确定 RNA 的哪些部分要被去除呢？和外显子的编码序列不同，一个内含子的大部分核苷酸的确切序列看来并不重要。尽管不同的内含子的核苷酸序列之间几乎没有任何相似性，但每个内含子都含有一些短的核苷酸序列作为去除的信号。这些序列位于或靠近内含子的两端，它们在所有的内含子中相同或极为相似（图 7-19）。在这些序列的指导下，一个精心制作的剪接机器用红色标记突出的“A”（图 7-19，图 7-20）以一个“套索”结构切掉了内含子（图 7-20）。

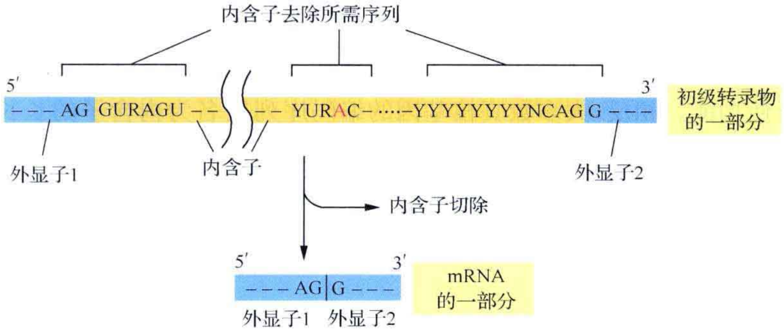


图 7-19 特殊的核苷酸序列标示内含子的起始和结尾。图上只显示对去除内含子所必需的序列。内含子的其他位置可以是任何核苷酸。微核蛋白（snRNP）识别这一特殊序列，在内含子-外显子边界处切开 RNA，然后将外显子序列共价连接在一起。在这里，R 代表 A 或者 G；Y 代表 C 或者 U；N 代表任何一种核苷酸。在剪接反应中，红色突出的 A 形成套索产物分支点（图 7-20）。RNA 上三个剪接序列之间的距离变化可以非常大，而分支点到 5′接合处之间的距离通常要比 3′接合处到分支点之间的距离要长很多。图示的剪接序列来自于人，相同的序列在其他真核生物中也被用于指导 RNA 剪接。

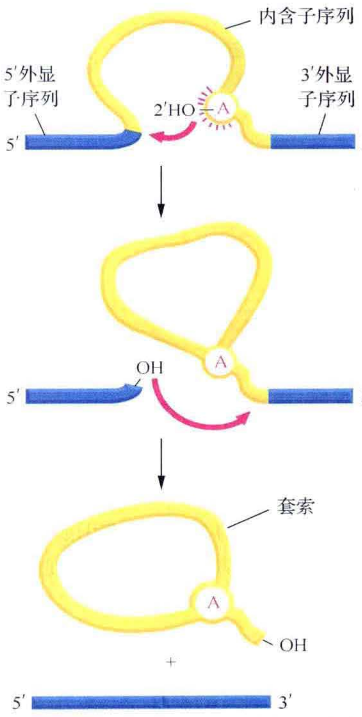


图 7-20 内含子在剪接过程中形成分枝结构。第一步，在内含子序列中的分支点腺嘌呤（红色的 A）攻击 5′剪接位点并切开在这一点上的 RNA 的糖-磷酸骨架（和图 7-19相同的亮红色 A）。切开的 5′端内含子共价地连接到 A 核糖的 2′-OH 基团，形成分支结构。外显子序列的游离 3′-OH 端随后与下一个外显子序列的起始处反应，将两个外显子连在一起形成连续的编码序列。含有内含子序列的套索被释放并最终降解。

尽管我们没有详细描述剪接机制，但我们注意到，不像生产 mRNA 的其他步骤，RNA 剪接在很大程度上是通过 RNA 分子而不是蛋白质来完成。RNA 分子识别内含子-外显子分界点（通过互补碱基配对），并且密切地参与剪接。这些 RNA 分子被称为**微核 RNA（snRNA）**，它和蛋白质组成的复合物被为核微小核糖核蛋白颗粒（snRNP，发音为“snurps”）。snRNP 形成**剪接体**的核心，集结大量 RNA 和蛋白质分子，使之在细胞内完成 RNA 剪接，视频 7.5 可了解剪接体是如何活动的。

乍一看来，在真核生物中基因以内含子和外显子的方式排列是很浪费的，但它却有积极作用。首先，许多真核生物基因的转录物可以以不同方式剪接，每种剪接方式可以产生不同的蛋白质。因此，这种**选择性剪接**允许同一基因产生出许多不同的蛋白质（图 7-21）。据估计，大约 60%的人类基因可能进行选择性剪接。因此，RNA 剪接能够使真核生物增加其基因组已经很巨大的编码潜能。

RNA 拼接还使真核生物比原核生物又多了一重优势，很可能在基因进化早期阶段非常重要。我们将在第 9 章中详细讨论，内含子-外显子基因结构被认为加快了新的、有用的蛋白质的出现。DNA 中大量内含子的存在提高了不同基因外显子之间发生遗传

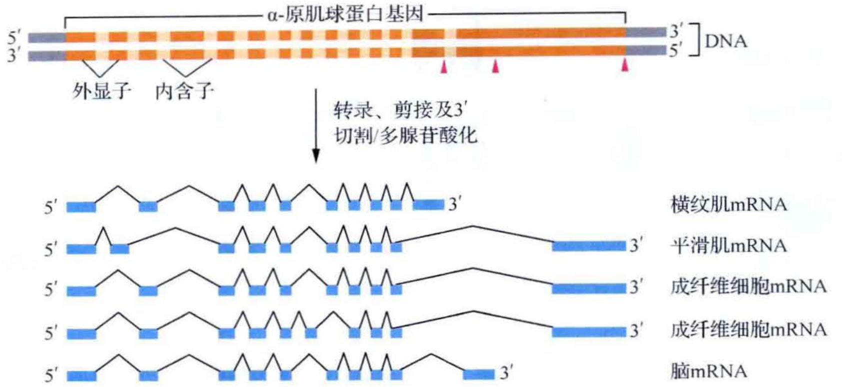


图 7-21 α-原肌球蛋白基因可以以不同方式剪接。α-原肌球蛋白是一种卷曲螺旋蛋白(图 4-13),在肌细胞内调节收缩。如图所示,其转录物可以以不同方式进行剪接,产生不同的 mRNA 及不同的蛋白质。有些剪接形式只针对特定种类的细胞。例如,横纹肌形成的 α-原肌球蛋白与平滑肌中的不同,尽管两种蛋白质来源于同一个基因。图上方的红箭头表示可添加 poly-A 的位点。

重组的可能性。这意味着通过组合先前存在的不同基因片段可以非常快地进化出新的蛋白质,这一机制类似于通过一个功能组件装备一台新型的机器。事实上,现今细胞内的许多蛋白质就像是由一套共同的蛋白质片段组成的拼接件一样,这些片段叫蛋白质结构域(图 4-16)。

7.1.10 成熟的真核细胞 mRNA 从细胞核内输出是具有选择性的

我们已经知道真核细胞的 mRNA 在细胞核内是如何以一种既定的方式合成与加工的。然而,对真核细胞来说,这种合成与加工方式却带来一个特别的问题:在所有合成的全部 mRNA 中只有一小部分是对细胞有用的。那些其余 RNA 片段包含内含子、分裂 RNA 和异常剪接的副本。如果不破坏这些 RNA 片段的话,它们不仅对细胞本身没有任何用处,而且具有危险性。然而,细胞是如何识别那些细胞所需要保持的相对稀少的成熟 mRNA 分子与数量巨大的由 RNA 加工所产生的碎片?

答案是 mRNA 从细胞核到细胞质再到 mRNA 在细胞质中被翻译为蛋白质的转运具有高度选择性:只有经过正确加工处理后的 RNA 才可以通过。经过恰当加工处理后的 RNA 的转运是依靠细胞核的**核孔复合体**作为媒介来实现的。这种核孔复合体只对完整的 mRNA 进行识别和输出。就如同我们在第 15 章里将要讨论的,这些连接着核质和胞质的水孔,像大门一样控制着大分子进入或者离开细胞核。为了作"输出准备",mRNA 分子必须被限制在一系列适当的蛋白质上,每一种蛋白质都表明 mRNA 经过了正确的加工处理。这些蛋白质包括多个 poly-A 结合蛋白、一个帽结合复合体和多个可以标记完整 RNA 片段的蛋白质(图 7-22)。根据推测,所有的蛋白质,而不是任何单一的蛋白质共同决定一个 RNA 分子是否可以离开细胞核。那些仍然留在细胞核内的无用的 RNA 被分解,而它们的基本元件会因复制而再次使用。

7.1.11 mRNA 分子最终被细胞降解

因为同一个 mRNA 分子可以被多次翻译,所以一个成熟的 mRNA 分子存在于细胞内时间的长短将影响由其合成的蛋白质产量(图 7-2)。每个 mRNA 分子最终都会被 RNA 酶降解为核苷酸,但是 mRNA 分子的寿命有明显的差异——这取决于 mRNA 的核苷酸序列及产生该种 mRNA 的细胞类型。细菌内产生的大部分 mRNA 很快被降解,一般寿命约为 3 min。真核细胞的 mRNA 通常存留较长时间。有些转录产物,如编码 β-珠蛋白的 mRNA,寿命超过 10 h,而

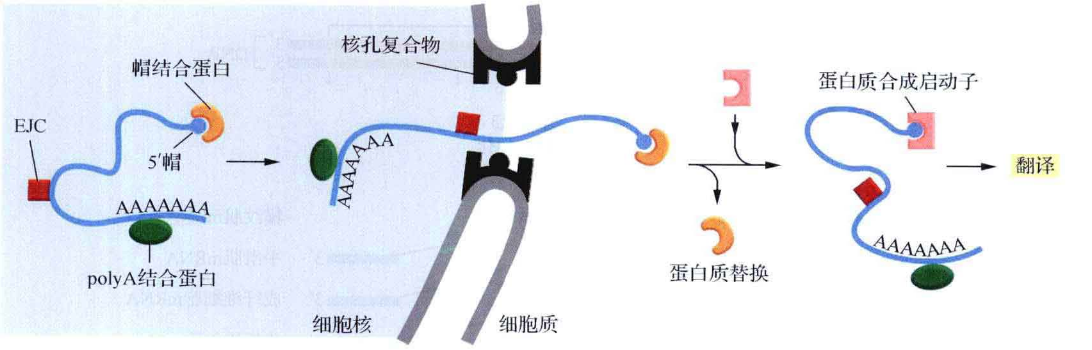


图 7-22 一组特殊的 RNA 结合蛋白标示 mRNA 已成熟，可以送到胞质中。如左图所示，一个成熟的 mRNA 分子的帽结构和 poly-A 尾被能够识别这些修饰的蛋白质所“标记”。此外，在成功剪接 RNA 之后，被称为外显子连接复合体(EJC)的一组蛋白质也结合在 mRNA 上。一旦 mRNA 被标识为“准备运出”，核运输受体便与之结合(第 15 章中讨论)，并引导其通过核孔。mRNA 一进入细胞质便可以摆脱之前的结合蛋白，并与新的蛋白结合。

有些 mRNA 寿命则不足 30 min。

mRNA 中的核苷酸序列部分控制了其寿命，这些序列大部分存在于编码序列的 3′端和 ploy-A 尾之间(称为 3′非翻译区)。mRNA 的不同寿命协助细胞决定每种蛋白质的合成水平。一般说来，合成水平较高的蛋白质如 β-珠蛋白是由较长寿命的 mRNA 翻译而来的；反之，低水平表达的蛋白质或者其表达水平随信号而快速改变的蛋白质，往往是由短寿命的 mRNA 合成的。这些不同寿命的 mRNA 都是进化过程中根据细胞的需要而微调每种 mRNA 的稳定性的结果。

7.1.12 最早期的细胞基因内可能已有内含子

转录的基本过程是普适性的：所有的细胞利用 RNA 聚合酶和碱基互补配对原则从 DNA 转录为 RNA。事实上，细菌和真核 RNA 聚合酶在结构上几乎完全相同，明显提示二者是由同一祖先聚合酶进化而来，但在真核生物和原核生物中，细胞却以非常不同的方式处理转录产物，这看起来很令人迷惑不解(图 7-23)。特别是，RNA 剪接似乎标志着这两种类型细胞之间具有根本性的不同。那么，这种戏剧性的区别是如何起源的呢？

正如我们所看到的，RNA 剪接为真核生物提供了从单个基因中生产出多种蛋白质的能力，并且让真核生物有了一定程度的进化灵活性。然而，在这些优势背后，代价也随之而来：细胞不得不拥有一个大基因组，转录成 RNA 后还需要剪接掉很大一部分。有一类学派认为，早期细胞——原核生物和真核生物的共同祖先——包含有内含子，这些内含子在原核生物的进化中丢失。通过丢失内含子的方法，原核生物采用比真核生物更小更精简的基因组能够比真核生物更快更有效地进行繁殖。与这一见解相符合的是，快速繁殖的某些真核细胞(如酵母)含有较少的内含子，而且这些内含子通常比高等真核生物要短很多。

另外，有些人认为内含子原先是寄生在早期真核生物里可移动的遗传物质，这些遗传物质侵入真核生物祖先体内，并克隆进寄主的基因组里(在第 6 章中讨论过)。然后，这些寄主细胞不知不觉地连同自己的 DNA 在内复制着这些自私的核苷酸片段，而现代真核生物从来没有想到要去除这些远古入侵者留下的遗传片段。当然问题还远远没有解决：不管怎样，真核生物内含子是早期进化出来而在原核生物中被丢弃，还是晚期进化出来，一直是科学争论的焦点，我们将在第 9 章讨论。

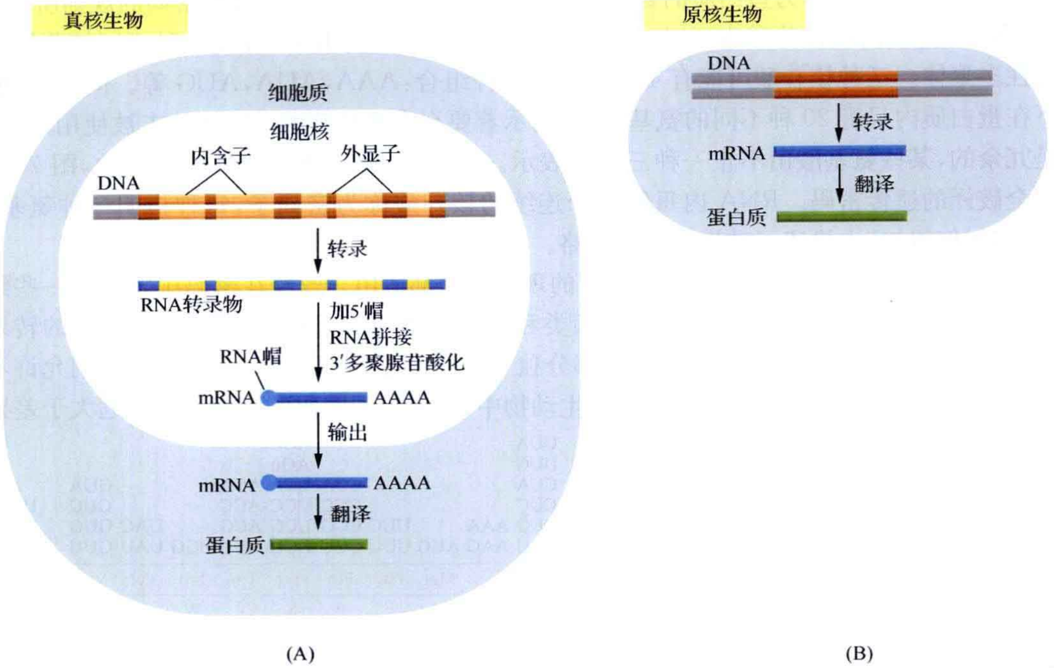


图 7-23 原核生物和真核细胞用不同方式转录 RNA。(A)在真核细胞内，转录产生的初始 RNA 分子含有内含子和外显子序列。它的两端被修饰，内含子经酶促 RNA 剪接反应被去除。最终的 mRNA 随后从核内转运到细胞质，并被翻译成蛋白质。尽管这些步骤被描绘成按顺序逐一发生，实际上它们是同时发生的。例如，RNA 加帽和拼接经常在初级转录物完成之前就已经开始了。正因为这种耦合效应，一般在细胞内不会存在整个基因的转录物(包括所有的内含子和外显子)。(B)在原核生物中，mRNA 分子的产生比较简单。mRNA 分子的 5′端由 RNA 聚合酶催化的转录起始产生，而 3′端则因转录终止而产生。由于原核细胞没有细胞核，所以转录和翻译在同一个空间中进行。因此，细菌 mRNA 的翻译可以在其完成合成之前开始。一个细胞内的蛋白质数量依赖于生成蛋白质的每一步的效率，以及 RNA 和蛋白质分子降解的速度。

7.2 从 RNA 到蛋白质

在 20 世纪 50 年代后期，生物学家们已经证明了 DNA 编码的信息首先被拷贝成 RNA，再到蛋白质。接下来争论的主要问题是“编码问题”：RNA 中的线性核苷酸所蕴含的信息被翻译为另一种线性序列，而这种线性序列是由一套化学结构迥然不同的亚基——蛋白质内的氨基酸构成的，这一切是如何完成的呢？在当时，这个问题使科学家们兴奋。这是自然界所设的一个谜，在经历了 30 多亿年的进化后，最终，进化的产物之一——人类，将要破解它！事实上，科学家们不仅破译了密码，而且还在原子层面上精确地展示了细胞这台机器是如何运作读出密码的。

7.2.1 mRNA 以三核苷酸组的形式被解译

作为一种信息转换方式，转录是容易理解的，因为 RNA 和 DNA 在化学性质和结构上相似，并且通过碱基互补配对，DNA 可以直接作为 RNA 合成的模板。正如转录这一术语所表示的那样，它就像将一条手写的信息转换为书写体，信息的语言和形式并未改变，而且所使用的符号十分相似。

相反，RNA 内的信息向蛋白质的转换是把信息**翻译**为另外一种语言，这种语言由截然不同的符号组成。因为 mRNA 中只有 4 种核苷酸而蛋白质中有 20 种氨基酸，翻译不可能通过 mRNA 内的核苷酸与蛋白质内的氨基酸之间的一一对应关系来实现。基因的核苷酸序列以 mR-

NA 为媒介，最终被翻译为蛋白质的氨基酸序列，这一过程是通过称为**遗传密码**的规则所实现。

mRNA 分子内的核苷酸序列以三个一组被连续阅读，因为 RNA 是由 4 种不同核苷酸组成的线性多聚体。三种核苷酸可能有 4×4×4=64 种组合：AAA，AUA，AUG 等。但是，一般情况下在蛋白质内只有 20 种不同的氨基酸，这暗示着要么有些核苷酸三联体从未被使用，要么密码是冗余的，某些氨基酸由不止一种三联体表示。事实上，第二种可能性是正确的，图 7-24 表示完全破译的遗传密码。RNA 内每组三个连续的核苷酸称为**密码子**，每种指明一种氨基酸。在“我们如何得知”中描述了破译密码的策略。

如图 7-24 所示的遗传密码对几乎所有的现有生物都适用。曾经在密码中发现过一些细微的差别，主要集中于线粒体 DNA、一些真菌类和原生动物的 DNA。线粒体有其自身的转录和蛋白质合成体系，它们相对于细胞的其他部分独立操作（将在第 14 章讨论），并且它们允许不同于普适密码的微小变化。即使在真菌和原生动物中，它们之间密码的相似性也远远大于差异。

	AGA									UUA					AGC					
	AGG									UUG					AGu					
GCA	CGA						GGA			CUA				CCA	UCA	ACA			GUA	
GCC	CGC						GGC		AUA	CUC				CCC	UCC	ACC			GUC	UAA
GCG	CGG	GAC	AAC	UGC	GAA	CAA	GGG	CAC	AUC	CUG	AAA		UUC	CCG	UCG	ACG		UAC	GUG	UAG
GCU	CGU	GAU	AAU	UGU	GAG	CAG	GGU	CAU	AUU	CUU	AAG	AUG	UUU	CCU	UCU	ACU	UGG	UAU	GUU	UGA
Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val	stop
A	R	D	N	C	E	Q	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V	

图 7-24 mRNA 核苷酸序列依据遗传密码翻译成蛋白氨基酸序列。上表列出了所有的编码给定氨基酸的三核苷酸密码子，包括每个氨基酸的三字母缩写及其单字母缩写（图版 2-5，每种氨基酸的全名及结构）。传统上，书写密码子时总是 5′端的核苷酸在左边。注意大多数氨基酸由多于一个密码子代表，而且编码每种氨基酸的一组密码子有其规律性。同一氨基酸的密码子倾向于在前两个位置含有相同的核苷酸，而在第三个位置有所变化。有三种密码子不编码任何氨基酸，而是作为终止位点起作用（终止密码子），指示蛋白质编码序列的结束。有一种密码子——AUG，既可作为起始密码子来指示蛋白质编码信息的开始，又可以编码甲硫氨酸。

原则上，一条 RNA 信息可以以三种不同**阅读框**中的任何一种被翻译，这取决于翻译起点（图 7-25）。但三种可能的阅读框中，只有一种可编码 mRNA 所指定的正确的蛋白质。在后面章节中，我们将看到 RNA 如何利用自身起始处的一种特殊标点信号设定正确阅读框。

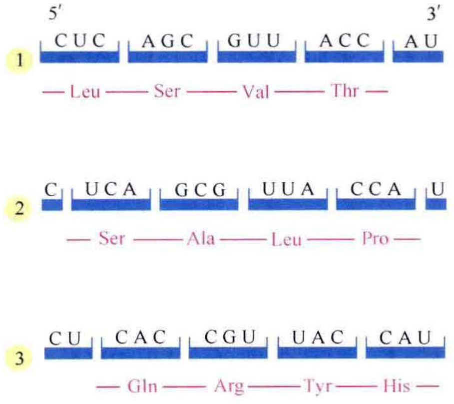


图 7-25 一个 RNA 分子可以以三种可能的阅读框进行翻译。在核苷酸序列（蓝色）翻译为氨基酸序列（红色）的过程中，mRNA 分子上的核苷酸序列从 5′端到 3′端三个一组依次被解读。因此原则上，依据不同的阅读框，同一 RNA 序列能编码三种完全不同的氨基酸序列。而事实上，只有一种阅读框编码实际信息。

我们如何得知：破译遗传密码

在20世纪60年代初，中心法则作为一条沿着从基因到蛋白质的信息途径已经被接受，它清楚地说明了基因编码蛋白质，基因由DNA组成，而mRNA作为媒介，将细胞核（保存DNA的地方）的信息运送到细胞质（把来自于细胞核的信息翻译成蛋白质的地方）。

即便遗传密码的通用格式已经确定：在蛋白质中已经发现的20种氨基酸，每一种对应mRNA分子中的三密码子，但是更大的挑战依然存在：生物学家、化学家，甚至物理学家都将他们的目光投向破译遗传密码，试图找出64种可能的三核苷酸组合，每种各指定了哪种氨基酸。最直接的解决方案将是把DNA或者mRNA片段的序列与其相应的多肽产物相比较。然而，在10年后才发明核酸测序技术。

因此，研究者们决定，为了破译遗传密码，他们只能合成简单的mRNA序列。如果他们能够把这些分子供给核糖体，而核糖体制造出了蛋白质，然后分析这些多肽产物，他们将能一步一步地破译是哪一种密码子编码哪一种氨基酸。

丢弃细胞

在研究人员开始准备合成mRNA序列之前，他们希望先完善蛋白质合成的无细胞系统，这将使他们能够在试管内把简单的mRNA序列翻译成多肽。（一般而言，在实验室里做实验，系统越简单越容易解释实验结果。）为了梳理出分子机制，他们需要这样一个无细胞翻译系统。于是研究人员破碎大肠杆菌细胞，将其内容物放入离心机内高速离心，让细胞膜和其他大块细胞残片在离心力的作用下集中到管底；较轻的细胞组分是合成蛋白质所必需的，包括mRNA、tRNA接头、核糖体、酶和其他小分子，它们漂浮在上清液里。研究人员发现简单地在这个细胞"汤"内添加放射性核素标记过的氨基酸将导致放射性核素标记的蛋白质的产生。在比先前的离心速度略高的条件下再次离心这些上清液，研究人员能够将核糖体和新合成的多肽沉淀在管底。丢弃上清液后，留在管里的沉淀能被放射性测量器探测到经过标记的多肽。

这个特定系统的问题在于细胞本身的mRNA编码产生的蛋白质已经存在于细胞提取液中，但是研究人员希望利用他们自己合成的mRNA序列来指导蛋白质的合成。Marshall Nirenberg发现可以通过向细胞提取液内添加少量的核糖核酸酶（降解RNA的酶）的方法来破坏细胞本身的mRNA，故而只要向细胞提取液内混入核糖核酸酶，上述问题就解决了。现在，他所需要做的就是制备大量的mRNA序列，然后将这些人工合成的mRNA注入无细胞系统中，观察该系统会产出什么样的多肽。

伪造信息

对于人工合成一个给定的序列的多核苷酸并不像听起来那么简单。而且，可以合成给定的核酸序列的技术也要在数年之后才由化学家们开发出来。Nirenberg决定使用多核苷酸磷酸化酶，这种酶能够在没有模板的情况下将核苷酸连接起来，由此产生的RNA序列便会完全取决于往酶液里添加了哪个核苷酸。混合的核苷酸将生成随机序列；而单一类型的核苷酸将生成只含有一种核苷酸的均一的线性聚合体。因此，Nirenberg及其合作者Heinrich Matthaei最先合成出完全利用尿嘧啶的mRNA——poly U。

研究人员将poly U放入他们自己发明的无细胞翻译系统。随后，他们向系统中加入放射性核素标记过的同种氨基酸。每次测一种氨基酸，在做了20次不同的实验之后，确定了poly U指导合成只含有苯丙氨酸的多肽（图7-26）。由于UUU是这个mRNA中唯一的密码子，所以有充分的理由证明，UUU编码苯丙氨酸，由此人类第一次破译了遗传密码中的一个密码。

然后，Nirenberg和Matthaei用poly-A和poly C重复了以上实验，确定了AAA编码赖氨酸；CCC编码脯氨酸。但是，他们无法用这个方法来确定poly G编码的氨基酸，因为这个多核苷酸会形成不固定的三螺旋结构，从而无法在无细胞系统中作为模板合成多肽。

将人工合成的mRNA供给核糖体来破译遗传密码，这种方法似乎是富有成效的。但随着由同种核苷酸组成的密码子被翻译，科学家们确定了3个密码子，却还有61个有待确定。而其他密码子更难人工合成，科

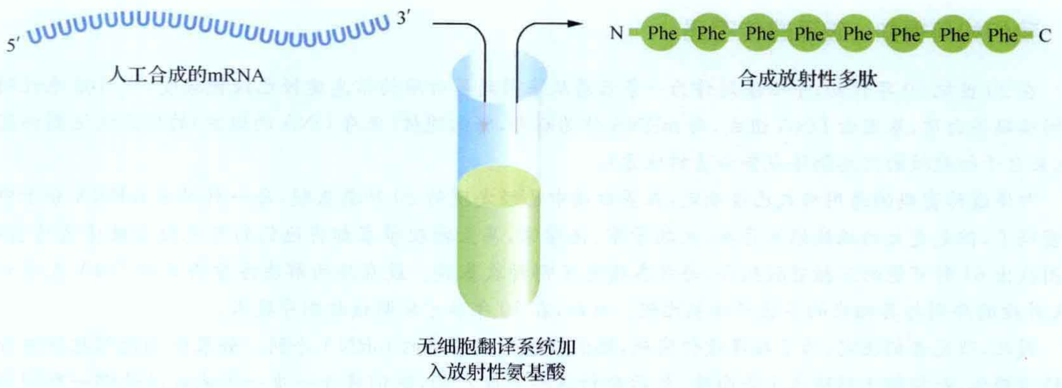


图 7-26 UUU 编码苯丙氨酸。人工合成的 mRNA 加入到一个包含核糖体、tRNA、酶及其他小分子的无细胞翻译系统中。放射性标记的氨基酸加入该系统中，而后分析产生的多肽。在这种情况下，发现 poly U 编码只含有苯丙氨酸的多肽。

学家们需要建立新的合成方法。20 世纪 50 年代，有机化学家 Gobind Khorana 开发了一种能以给定的序列制备混合多核苷酸的方法，但这种方法只能合成 DNA。当 Khorana 听说 Nirenberg 做的工作，他马上将他的精力和技术投入到合成 RNA 上。他发现如果他能合成确定序列的 DNA，那么他就可以用 RNA 聚合酶来产生对应于这个 DNA 序列的 RNA。这样，Khorana 就准备了一批由确定重复序列合成的各种 mRNA：重复二核苷酸序列（如 poly UC），重复三核苷酸序列（如 poly UUC），或者重复四核苷酸序列（如 poly UAUC）。

然而，破译这些混合多核苷酸产生的信息要比单核苷酸（Nirenberg 完成的实验）远远复杂得多。以 poly-UG 为例，当重复二核苷酸添加到翻译系统中，研究人员发现它编码交替出现半胱氨酸和缬氨酸的多肽，自然，此 RNA 包含两种交替出现的密码子：UGU 和 GUG。因此，研究人员可以确定 UGU 和 GUG 编码半胱氨酸和缬氨酸，虽然他们无法断定哪个密码子对应哪个氨基酸。这样，三种核苷酸混合的 mRNA 序列可以提供有用的信息，却无法准确地告知哪一种密码子指定哪一种氨基酸（图 7-27）。

信息	多肽产物	对应的密码子
poly UG	…Cys–Val–Cys–Val…	UGU, GUG → Cys, Val*
poly AG	…Arg–Glu–Arg–Glu…	AGA, GAG → Arg, Glu
poly UUC	…Phe–Phe–Phe… + …Ser–Ser–Ser… + …Leu–Leu–Leu…	UUC, UCU, CUU → Phe, Ser, Leu
poly UAUC	…Tyr–Leu–Ser–Ile…	UAU, CUA, UCU, AUC → Tyr, Leu, Ser, Ile

*一个密码子对应半胱氨酸，另一个则对应缬氨酸。同样不明确的密码子对应情况存在于该图示中。

图 7-27 混合重复序列提供的信息进一步缩小了编码的可能性。虽然这些混合的信息揭示了编码的多肽成分，但是并不明确显示单个密码子对应哪个特定的氨基酸。例如，使用 poly UG 得到的实验结果，无法区别是 UGU 还是 GUG 编码了半胱氨酸。如上所述，同样不明确的情况在所有使用二核苷酸、三核苷酸及四核苷酸做的实验中都存在。

诱捕三核苷酸

这些不明确的密码最终被 Nirenberg 和一位叫 Phil Leder 的年轻医学研究生解决了，他们发现只有三个核苷酸长度，也就是单个密码子大小的 RNA 片段能够结合到核糖体上，并且可以吸引带有特定氨基酸的

tRNA 结合到这个蛋白质制作机器上。这个复合体包括:一个核糖体、一个 mRNA 密码子和一个同位素标记的氨酰-tRNA。而后,他们只要用一张滤纸收集复合体,鉴定吸附其上的氨基酸就可以了。

他们用 UUU——第一个被破译的密码进行了出色的试验。Leder 和 Nirenberg 预先准备好普通的无细胞翻译系统,放入 UUU 多核苷酸片段。这些三核苷酸结合到核糖体上,Phe-tRNA 结合到 UUU 上。在此次试验中,研究人员再次证实 UUU 编码苯丙氨酸,这样建立起了新系统并开始运作。

接下来,所有要做的是研究人员合成出所有 64 种可能的密码子,在 Nirenberg 和 Khorana 实验室的共同努力下,此项任务被迅速地完成了。由于用化学方法合成三核苷酸小片段及诱捕三核苷酸试验比先前的解码实验更容易执行和分析,因此研究人员在第二年就破译出整个遗传密码。

7.2.2 tRNA 分子使氨基酸与 mRNA 上的密码子相匹配

mRNA 分子的密码子并不直接识别它们所指定的氨基酸,即三核苷酸组并不直接结合氨基酸。由 mRNA 翻译为蛋白质的过程依赖于一种连接物分子,它能识别并在其表面的不同位点上结合密码子和氨基酸。这些连接物分子是一整套小 RNA 分子,叫**转移 RNA(tRNA)**,它们的长度约为 80 个核苷酸。

我们在前面看到,RNA 通过分子内不同区域间的碱基配对一般能够折叠形成三维结构。如果碱基配对区域足够广泛,它能形成像双链 DNA 一样的双螺旋结构,tRNA 分子就是一个很好的例子。折叠的 tRNA 有 4 段形成双螺旋,使得整个分子画起来就像一片三叶草叶(图 7-28A)。例如,位于多聚核苷酸链一部分的 5′-GCUC-3′序列可与同一分子另一区域的 5′-GAGC-3′序列形成较强的联系。"三叶草"结构经过进一步的折叠,形成一种紧凑的 L 型结构,这种结构由分子不同区域间的其他氢键所维系(图 7-28B 和 C)。

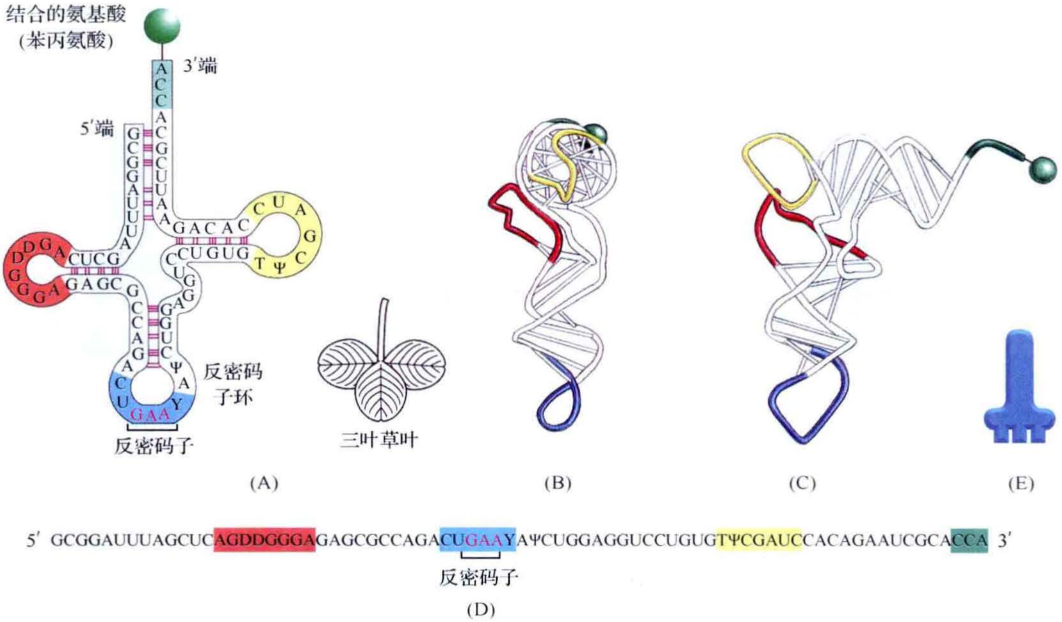


图 7-28 tRNA 分子是连接氨基酸和密码子的分子接头。在这一系列图例中,同一 tRNA——在这里是针对苯丙氨酸(Phe)的 tRNA 分子——以不同方式描绘而成。(A)常用的三叶草结构,用于表示分子内产生双螺旋区段(红线)的互补碱基配对。反密码子(红)是一段三核苷酸序列,它与 mRNA 内的密码子形成碱基配对。与密码子/反密码子配对相匹配的氨基酸结合于 tRNA 的 3′端。tRNA 含有一些罕见碱基,它们是在 tRNA 合成后经化学修饰产生的。如以 Ψ(假尿嘧啶)和 D(双氢尿嘧啶)为符号的碱基由尿嘧啶衍生而来。(B)和(C)基于 X 射线衍射分析的真实的 L 型分子。这两个图像相互旋转 90°。(D)该分子的线性核苷酸序列,颜色表示部分与(A)、(B)、(C)相对应。(E)tRNA 的简图,着重标出的反密码子将继续用于后续图示中。

位于 tRNA 的 L 型分子两端的未配对核苷酸序列，对其在蛋白质合成中的功能至关重要。其中之一形成**反密码子**，由三个连续的核苷酸组成，它们能与 mRNA 上的互补密码子配对；另外一个则是该分子 3′端的一小段单链区域，这是与密码子相匹配的氨基酸在 tRNA 上的结合部位。

在前一节中我们看到遗传密码是冗余的，也就是说，几种不同的密码子指定同一种氨基酸（图 7-24）。这种冗余现象暗示了两种可能性：许多氨基酸有不止一种 tRNA，或者某些 tRNA 分子能与不止一种密码子配对。事实上，两种情形都发生。某些氨基酸有不止一种 tRNA，而某些 tRNA 的结构只要求密码子的头两位精确配对而能容忍第三位的错配（摆动）。这种摆动碱基配对解释了为什么一种氨基酸的不同密码子仅在第三个核苷酸上有区别（图 7-24）。摇摆碱基配对使 20 种氨基酸以 61 种密码子与 31 种 tRNA 分子匹配成为可能。然而，tRNA 的种类数随物种而异。例如，人类有近 500 个不同的 tRNA 基因，但是它们只代表了 48 个反密码子。

7.2.3 特定的酶使 tRNA 与正确的氨基酸偶联

我们已经看到为了解读 DNA 上的遗传密码，细胞合成多种不同的 tRNA。我们现在必须考虑每个 tRNA 分子如何与 20 个氨基酸中正确的一个连接上。正确氨基酸的识别和结合需要**氨酰-tRNA 合成酶**的参与，这种酶能将每种氨基酸共价偶联到正确的一组 tRNA 分子上。大多数生物中，每种氨基酸都有其对应的合成酶（也就是说，共有 20 种合成酶）：如一种酶将甘氨酸结合于所有识别甘氨酸密码子的 tRNA，另一种酶将苯丙氨酸结合于所有识别苯丙氨酸密码子的 tRNA 等。反密码子和氨基酸接受臂的特定核苷酸使合成酶正确识别 tRNA（视频 7.6）。在解译过程中，这种酶和 tRNA 同等重要，因为正是合成酶与 tRNA 的联合作用才使 mRNA 分子上的每个密码子与其特定的氨基酸相联系（图 7-29）。

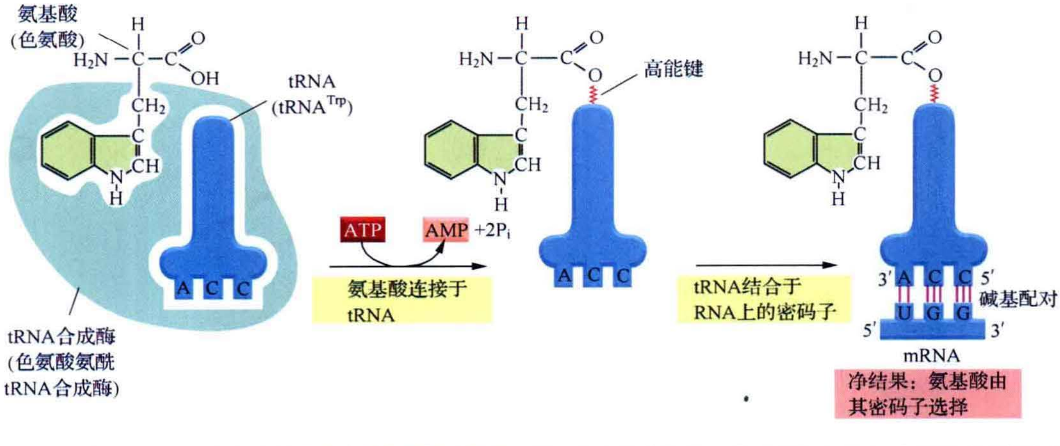


图 7-29 遗传密码通过两个接头分子的先后作用得以翻译。第一个接头分子是氨酰-tRNA 合成酶，它将特定氨基酸与其对应的 tRNA 相偶联；这个耦合过程称为装料。第二个接头分子是 tRNA 分子本身，其反密码子与 mRNA 上的相应密码子形成碱基配对。一个 tRNA 连接上相对应的氨基酸也称满载 tRNA。任何一步的差错——装料或是满载 tRNA 连接到相对应的密码子——均会导致错误氨基酸掺入蛋白质链。在图示的连续事件中，色氨酸由 mRNA 上的密码子 UGG 所选择。

合成酶催化的反应使氨基酸连接于 tRNA 的 3′端，与许多细胞反应一样，该反应与 ATP 释放能量的水解反应相偶联（图 3-30）。在氨基酸与其 tRNA 之间形成高能键，该键所含能量在蛋白质合成的后期被用来将氨基酸共价连接到增长的多肽链上。

7.2.4 RNA 信息在核糖体上被解译

与 DNA 复制和转录过程一样，tRNA 分子上的反密码子对密码子的识别需要碱基互补配对。然而，mRNA 精确和快速的翻译需要一种大型的分子机构，它能沿着 mRNA 移动，捕捉互

补的 tRNA 分子后，将它们定位，并在它们携带的氨基酸之间形成共价键以形成一条蛋白质链。这种蛋白质生产机器就是**核糖体**——一种大型的复合物，它是由多于 50 种不同的蛋白质（核糖体蛋白）和数种名为**核糖体 RNA（rRNA）**的 RNA 分子组成。一个典型的活细胞在其细胞质内含有上百万个核糖体（图 7-30）。

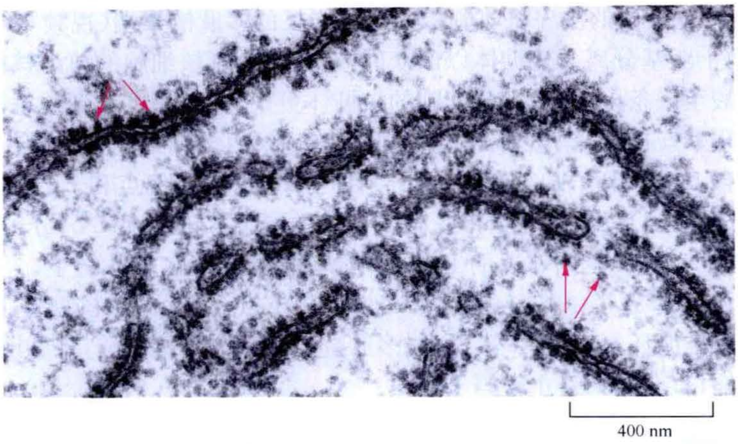


图 7-30 真核细胞细胞质中的核糖体。这张电镜照片显示了一小部分细胞质的薄切片。黑点为核糖体（红色箭头所指）。一些核糖体游离于细胞质中，其他的则结合于内质网的膜上。（蒙 Daniel S. Friend 惠许）

真核和原核生物的核糖体在结构和功能上都很相近。两者均由一个大亚基和一个小亚基组成，两个亚基装配在一起形成完整的核糖体，其分子量高达数百万（图 7-31）；而作为对比，平

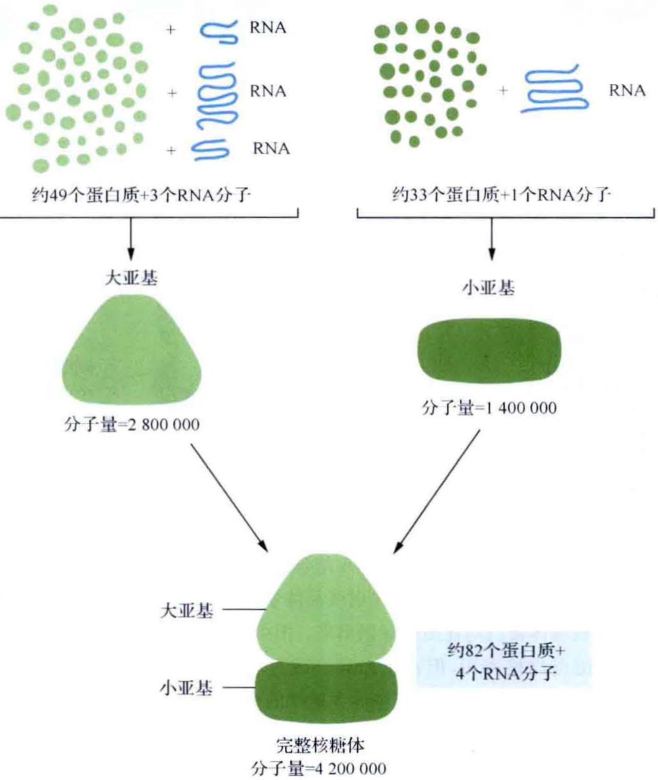


图 7-31 核糖体是一个大型复合物，由 4 个 RNA 和超过 80 个蛋白质组成。图中显示的是真核细胞核糖体的组成。原核生物核糖体的组成与真核细胞的十分相似。虽然核糖体蛋白在数量上远远超过 RNA，但是 RNA 占核糖体质量的一半以上。

均大小的蛋白质的分子量约为 30 000。小亚基使 tRNA 与 mRNA 的密码子相匹配;大亚基催化肽键的形成,将氨基酸共价连接起来形成多肽链。两个亚基一起,结合于 mRNA 分子,通常接近其起始端(5′端),开始一个蛋白质的合成。然后,mRNA 就像磁带一般地被拉过核糖体。核糖体沿着 mRNA 移动,一次移动一个密码子,从而将核苷酸序列翻译为氨基酸序列,利用 tRNA 作为连接物,以正确的次序将氨基酸添加到增长的多肽链末端(视频 7.7)。最后,在蛋白质合成完成后,两个亚基分离。核糖体以出众的效率工作:真核细胞的单个核糖体可以在 1 s 内添加约 2 个氨基酸至一条多肽链;细菌细胞的核糖体更快,其速率可达到约每秒 20 个氨基酸。

核糖体如何巧妙安排翻译所必需的移动呢?每个核糖体都含有一个结合 mRNA 分子的结合部位和三个结合 tRNA 分子的结合部位,分别称为 A 位点、P 位点和 E 位点(图 7-32)。要添加氨基酸使多肽链增长,首先,要让携带正确氨基酸的 tRNA 通过mRNA分子上的密码子配对进入 A 位点。然后,tRNA 占据邻近的 P 位点,氨基酸被连接在多肽链上。下一步,核糖体沿着 mRNA 移动,已经释放了氨基酸的 tRNA 占据 E 位点,而后再从核糖体上解离(图 7-33)。这三个步骤组成一个循环,每重复一次循环,多肽链上添加一个氨基酸,多肽链以此方式从其氨基端向羧基端延伸,直至遇到终止密码子。

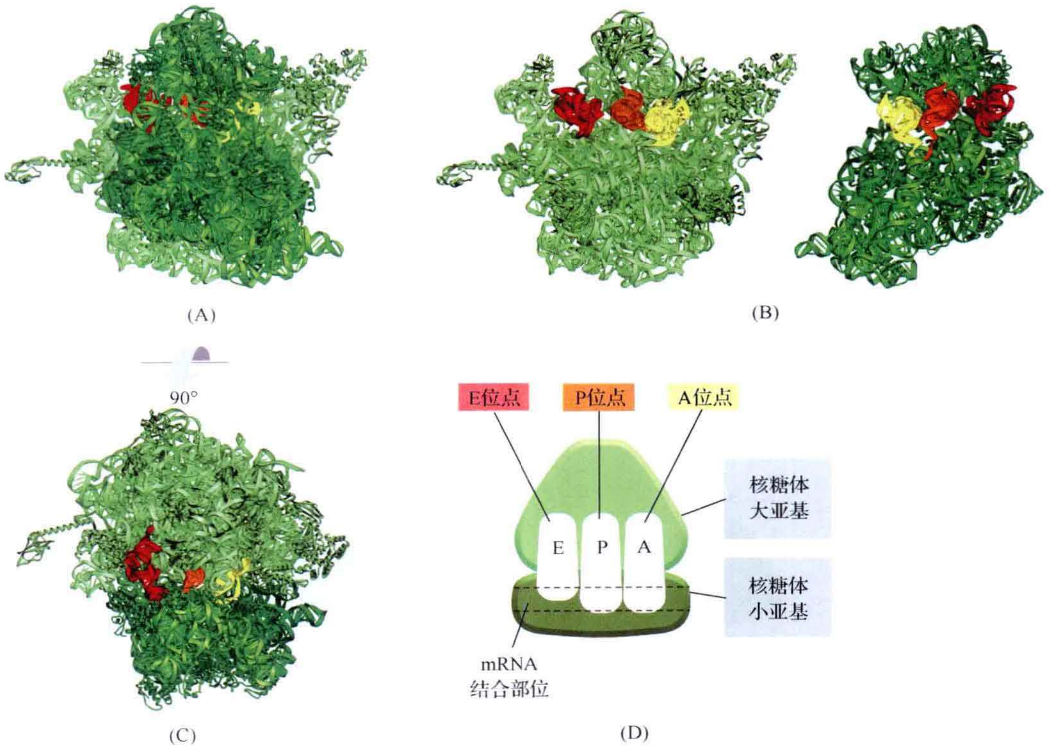


图 7-32　每个核糖体有一个 mRNA 结合部位和三个 tRNA 结合部位。tRNA 结合部位被称为 A 位点、P 位点和 E 位点(分别是氨酰-tRNA、肽酰-tRNA 及出口的简称)。(A)经 X 射线晶体学测定的细菌核糖体的三维结构,小亚基由深绿色表示,大亚基由浅绿色表示。RNA 和核糖体蛋白均在图中标识出来。图中 tRNA 结合于 E 位点(红色)、P 位点(橘色)和 A 位点(黄色)。虽然图中三个 tRNA 位点均被占用,但在蛋白质合成过程中,只有两个位点同时结合 tRNA 分子(图 7-33)。(B)如果图(A)里的核糖体像一本书那样打开,那么核糖体大亚基的结构位于(*左边*),小亚基的结构位于(*右边*)。(C)核糖体的结构,从(A)的顶部观察。(D)核糖体高度模式化的描述(方向同图 C),在后续各图中将沿用此图。(图 A、图 B 和图 C 根据 M. M. Yusupov et al., *Science* 292:883-896, 2001 改编,蒙 AAAS. Courtesy of Albion Bausom and Harry Noller 惠许)

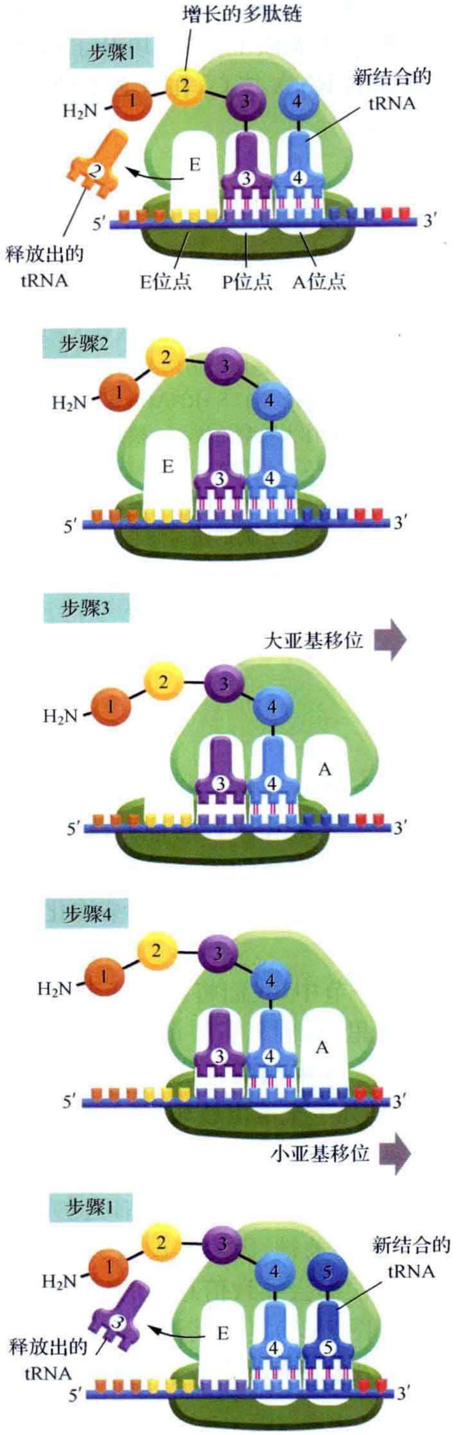


图 7-33　翻译以四步循环重复进行。在整个合成蛋白质的过程中，这个循环一遍一遍不停地重复。第 1 步中，一个 tRNA 携带下一个氨基酸与 mRNA 上的密码子形成碱基配对，并结合于核糖体上空置的 A 位点。因为在细胞的众多类型的 tRNA 分子中，只有一个 tRNA 分子与一个密码子配对，所以该密码子决定了哪种氨基酸添加到增长中的多肽链中。A 位点和 P 位点彼此十分接近，导致位于这两个位点里的 tRNA 分子被迫与相邻的密码子形成碱基对，两者之间没有任何其他错误的碱基。这样的安排保证了在整个合成蛋白质的过程中阅读框始终保持正确。第 2 步中，P 位点上的多肽链羧基端从 tRNA 上分离，并且以肽链结合到位于 A 位点 tRNA 上结合的氨基酸的自由氨基。这个反应由大亚基里的酶位点催化进行。第 3 步中，大亚基相对于小亚基移动，使大亚基中的两个 tRNA 分别进入 E 位点和 P 位点。第 4 步中，小亚基沿着 mRNA 分子精确地移动三个核苷酸，使它们回到原先并相对于大亚基的位置。这个运动重新清空了 A 位点以便让下一个氨酰-tRNA 分子结合上去(视频 7.8)。如图所示，mRNA 沿 5′→3′方向翻译，首先合成蛋白质的氨基端，每个循环添加一个氨基酸到多肽链的 C 端。观看更详细的翻译循环，见视频 7.9。

7.2.5　核糖体具有催化功能

核糖体是细胞中最大、最复杂的结构之一，由 1/3 的蛋白质和 2/3 的 RNA 组成。2000 年，成功测定核糖体大小亚基整个三维结构是现代生物学的一次重大胜利，其结构强有力地确认了早先的证据，rRNA 不是蛋白质，核糖体的全部的结构让它有能力去编排蛋白质的合成。

rRNA 高度紧凑地折叠着，其精确的三维结构形成了核糖体的核心(图 7-34)。与占据核糖体中心位置的 rRNA 形成显著对比的是，核糖体蛋白一般位于表面上，它们填补了折叠 RNA 的缝隙。核糖体蛋白的主要任务似乎是折叠和稳定核糖体的 RNA 核心，在有必要的时候也允许 rRNA 构象发生变化，使 RNA 有效率地催化蛋白质合成。

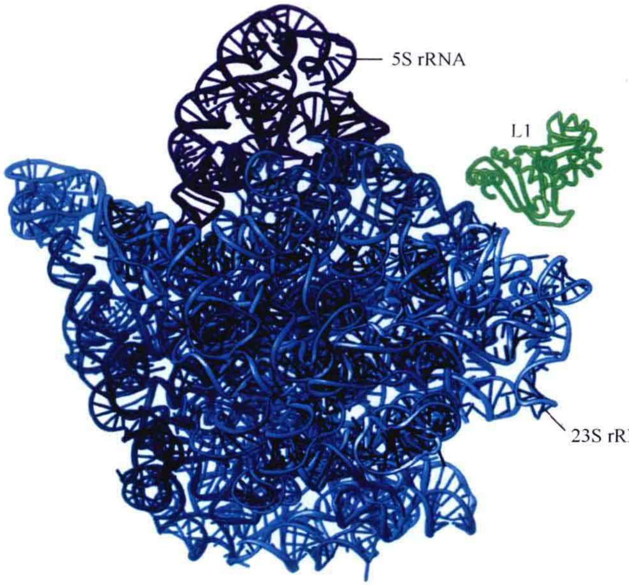


图 7-34　核糖体 RNA 决定核糖体的整体形状。图中所示的是两个 rRNA 的详细结构——23S rRNA(蓝色)和 5S rRNA(紫色)，两者形成了细菌核糖体大亚基的核心。核糖体的蛋白亚基之一(L1)在这里作为一个参考点，因为它在核糖体表面形成一个特征性的突起。一般核糖体组成成分是以它们的超速离心的沉降速率“S”来表示。(根据 N. Ban et al., *Science* 289: 905-920, 2000 改编，蒙 AAAS 惠许)

不仅在核糖体上的三个 tRNA 结合位点(A 位点、P 位点和 E 位点)主要由 rRNA 形成，而且催化肽键形成的部位亦由大亚基 23S RNA 组成；最近的氨基酸在太远的地方以至于不能和引入的氨酰-tRNA 或者正在延长的多肽链接触。这些由 RNA 组成的肽基转移酶催化部位在许多方面类似于一些由蛋白质组成的酶：形成一个正好定位两个反应物的高度结构化的口袋，延长肽链并装载 tRNA，因此大大地增加了反应的可能性。

具有催化活性的 RNA 分子称为**核酶**。在本章的最后一节中，我们将讨论基于 RNA 的催化作用可能对地球上生命的早期进化所具有的意义。在这里，我们只需要记住，有充分的理由推测是 RNA 而不是蛋白质担当了活细胞的第一个催化剂。如果的确是这样，核糖体的 RNA 核心可以被看成是早期生命历史的遗迹，那时细胞生命活动几乎全部由核酶来完成。

7.2.6　mRNA 上的密码子指示蛋白质合成的起始及终止

虽然在试管中，核糖体可以翻译任何 RNA(详见“我们如何得知”)，但是在细胞中则需要有一个特定的启动信号。在 mRNA 上蛋白质合成的起始位点很关键，因为它设定了整条信息的阅读框。在这一阶段以任何一种方式发生一个核苷酸的错误都会导致信息中的后续密码子被误读，最终将产生一个含有错义氨基酸的非功能性蛋白质(图 7-27)。在其他方面，蛋白质合成的起始步骤也很重要，它是细胞能够决定是否翻译 mRNA 及从 RNA 合成蛋白质的最后一步，因此起始的速率决定蛋白质合成的速率。

一条 mRNA 的翻译由密码子 AUG 开始，而且起始翻译需要一种特殊的 tRNA。这种**起始 tRNA** 总是携带甲硫氨酸(在细菌中，用的是甲硫氨酸的一种修饰形式——甲酰甲硫氨酸)，因此所有新合成的蛋白质在其 N 端——蛋白质首先被合成的一端，第一个氨基酸都是甲硫氨酸，这个甲硫氨酸随后通常被特定的蛋白酶切除。起始 tRNA 与一般携带甲硫氨酸的 tRNA 不同。

在真核生物中，与甲硫氨酸相偶联的起始 tRNA 首先与被称为**翻译起始因子**的蛋白质一起被装入核糖体小亚基(图 7-35)。细胞内所有结合了氨基酸的 tRNA 中，只有起始 tRNA 能牢固地结合于核糖体小亚基的 P 位点上。然后，负载的核糖体亚基结合于mRNA分子的 5′端，识别过程是通过真核生物 mRNA 上的帽结构来实现的(图 7-16)。核糖体小亚基随后沿着 mRNA 向前移动(5′→3′)，搜寻第一个 AUG。当遇到 AUG 后，数种起始因子从核糖体小亚基上解离，为大亚基参与组装完整的核糖体让开通道。因为起始 tRNA 结合于 P 位点，随着下一个偶联有氨基酸的 tRNA 进入 A 位点，蛋白质合成就开始了(图 7-35)。

在细菌中，选择起始密码子的机制有所不同。细菌的 mRNA 分子没有提示核糖体从何处开始搜寻翻译起始点的 5′帽结构，而是带有它们独特的核糖体结合序列，这种序列位于起始翻译的 AUG 上游数个核苷酸处，长度可达 6 个核苷酸。原核生物核糖体与真核生物核糖体不一样，只要核糖体结合部位在 mRNA 的起始密码子前的数个核苷酸，它就能较容易地直接结合位于 mRNA 内部的起始密码子。对于细菌来说，这样的核糖体结合序列是必需的，因为原核生物 mRNA 分子经常是多顺反子——同一 mRNA 分子编码数种不同的蛋白质(图 7-36)。相反，一个真核生物 mRNA 分子通常只携带单一蛋白质的信息。

不论是原核生物还是真核生物，蛋白质编码信息的终点由数种称为终止密码子的密码子指示(图 7-26)。这些特殊的密码子——UAA、UAG 和 UGA——不被 tRNA 识别，也不指定任何氨基酸，而是给核糖体传递停止翻译的信号。称为释放因子的蛋白质与到达核糖体 A 位点的任何终止密码子结合后，改变了核糖体中肽酰转移酶的活性，使之催化一个水分子而不是氨基酸加入到肽酰-tRNA(图 7-37)。此反应使增长的多肽链的羧基端从与 tRNA 分子的结合中释放出来。正因为有这种结合才使增长的多肽链结合于核糖体，于是完成的蛋白质链被立即释放至细胞质中。核糖体释放 mRNA 后解离为两个亚基，它们可在新的 mRNA 分子上组装以开始新一轮的蛋白质合成。

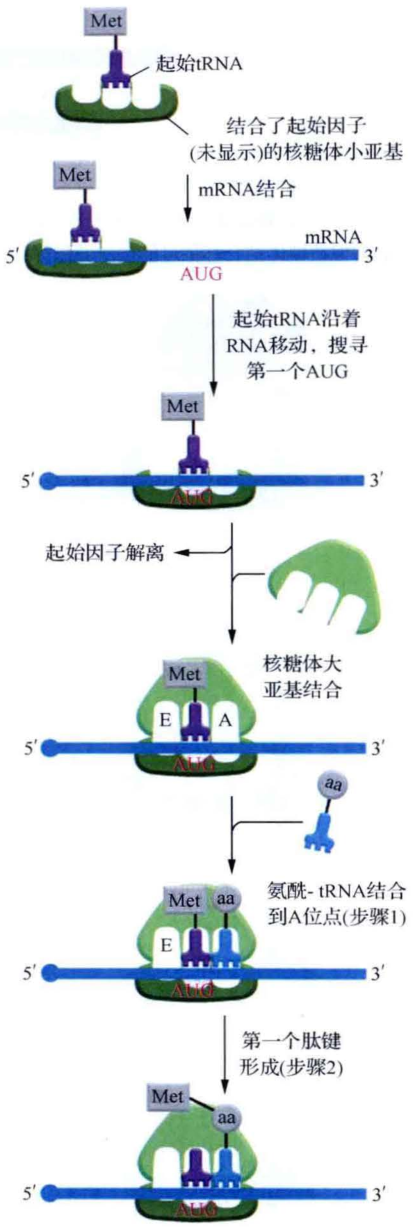


图 7-35 **真核细胞内蛋白质合成的起始需要起始因子及一个特殊的起始 tRNA。**虽然此图没有显示，实际的翻译起始还需要额外的(图 7-22)与 mRNA 的 5′帽结构和 poly-A 尾结合的蛋白质。这样，翻译机器在起始翻译之前能够确认 mRNA 的两端是完整的。反应起始后，蛋白质延伸反应如图 7-33 所示。

我们在第 4 章已经看到，许多蛋白质能够自发地折叠成三维结构，而且有一些是在核糖体上被合成时即开始折叠。但是在细胞内，大多数蛋白质需要分子伴侣协助它们正确折叠。这些最努力的分子伴侣通过多次水解 ATP，不断地结合和

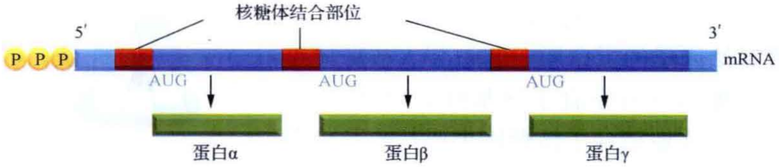


图 7-36 单一的原核 mRNA 分子可以编码几种不同的蛋白质。原核生物中，基因控制翻译过程中的不同步骤往往组织成簇（操纵子）一起转录成一条单一的 mRNA。与真核细胞核糖体识别 5′帽不同，原核细胞核糖体在核糖体结合部位（红色）起始翻译，但核糖体结合部位可能位于 mRNA 分子内部。这一特性使原核生物能从单一的 mRNA 分子合成多种蛋白质。

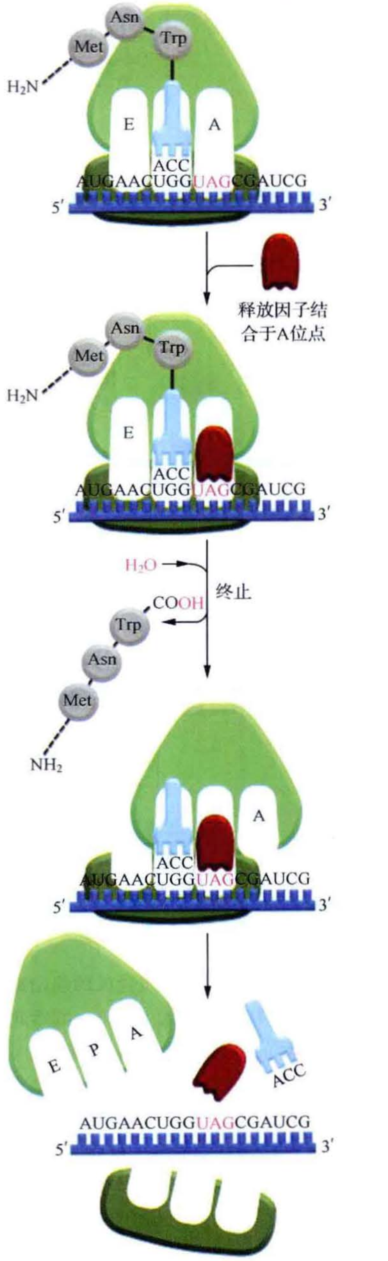


图 7-37 在蛋白质合成的最后阶段，释放因子与占有终止密码的 A 位点的结合，使翻译终止。完成的多肽得以释放，核糖体解离为两个亚基。

释放新合成的蛋白质，直到将它们完全地折叠好。这样的处理防止了蛋白质形成集合体或者形成其他错误折叠的结构，“掌控”着蛋白质的产生到折叠的过程。新合成的蛋白质在核糖体上一出现就可被相对应的分子伴侣特异地识别并结合。

7.2.7 蛋白质在多核糖体上合成

大部分蛋白质的合成时间在 20s 至数分钟之间，但在如此短的一段时间内，正被翻译的 mRNA 分子上可以发生多重起始。假如一条 mRNA 被高效地翻译，几乎就在前一个核糖体刚翻译了足够长的核苷酸序列而让出空位时，一个新的核糖体就会结合到 mRNA 分子的 5′端。因此，常发现正被翻译的 mRNA 分子以**多核糖体**（又叫多体）的形式存在，形成一种由多个核糖体排列在一个 mRNA分子上组成的大型细胞质聚集物，相互之间的距离可近至 80 个核苷酸（图 7-38）。与完成翻译后再开始新的蛋白质合成相比，这种多重起始意味着在一段给定时间内可合成数量更多的蛋白质分子。

细菌和真核生物都利用多核糖体，但细菌中的蛋白质合成速率更快。因为细菌的 mRNA 无需加工，而且在被合成的同时，就可以靠近核糖体，甚至在细菌 RNA 转录结束以前，核糖体就会特异地结合于 mRNA 的游离端，并紧紧跟随在沿 DNA 移动的 RNA 聚合酶之后开始翻译。

7.2.8 抗生素——原核生物的蛋白质合成抑制剂

地球上所有生物体的基本特征是具有把 mRNA 正确地翻译成蛋白质的能力。如同前面我们提到的，虽然在不同的生物体中，核糖体和其他分子在完成合成蛋白质这个庞大任务时是很相似的，但是细菌和真核生物之间还是存在着一些细微的差别。进化的巧合所导致的这些差别促成了医学界最重大的进步之一并形成了现代医学的基础。

许多极其有效的抗生素是通过抑制细菌，但不是真核生物的蛋白质合成而起效的化合物。一些药品使用小分子结构并且对于细菌和真核生物的核糖体有不同的功能，因此它们优先干扰细菌蛋白质的合成。这样，这些化合物

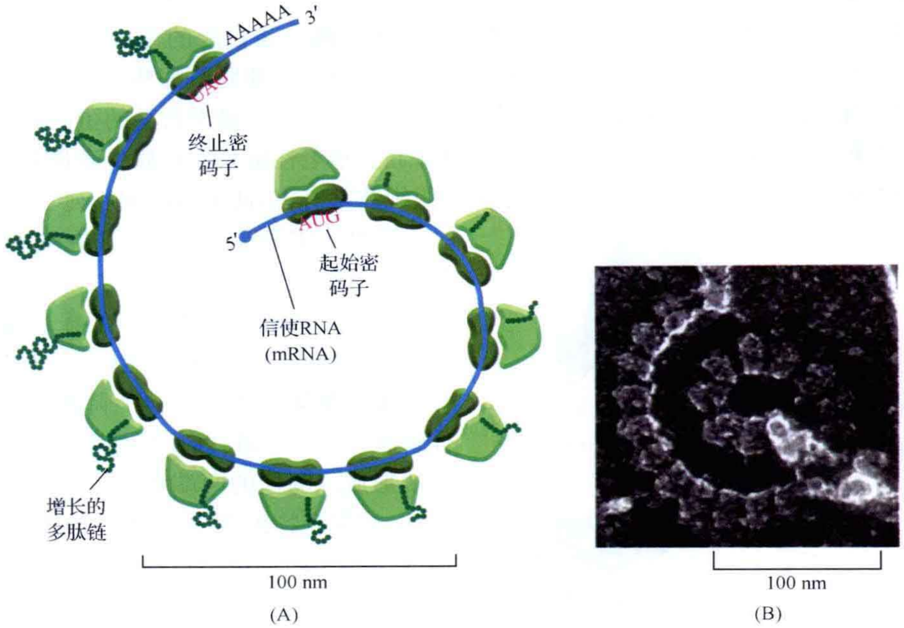


图 7-38 **多核糖体翻译蛋白质。**(A)示意图所示的是一系列核糖体如何同时翻译同一 mRNA 分子(视频 7.10)。(B)真核细胞多核糖体的电镜照片。(蒙 John Heuser 惠许)

就可以被频繁地使用而对人体没有毒害作用。由于不同的抗生素结合于细菌核糖体的不同区域,因而不同的药物通常抑制蛋白质合成的不同阶段,表 7-3中列出了一些抗生素。

表 7-3 抑制蛋白或者 RNA 合成的抗生素

抗生素	具体作用
四环素	阻止氨酰-tRNA 结合到核糖体 A 位点上(图 7-33,步骤 1)
链霉素	防止起始复合体转换到链-延伸核糖体(图 7-35);引起密码错编
氯霉素	阻止肽酰转移酶作用于核糖体(图 7-33,步骤 2)
环己酰亚胺	阻止核糖体移动(图 7-33,步骤 3)
利福霉素	通过结合到 RNA 聚合酶上,阻止起始转录 RNA 链

许多常用的抗生素第一次是从真菌中分离得到的。真菌和细菌常常长在同样的生态环境中;为了争取竞争优势,随着时间的推移,真菌进化出一种能够杀死细菌而对自身无害的有利的毒素。由于真菌和人类都是由真核细胞构成的,因而相互之间的关系要比任何一种细菌都要近(图 1-29),现在我们已经能够利用这些化合物来对付攻击我们身体的细菌。

7.2.9 精细控制的蛋白质降解协助调控细胞内每种蛋白质的量

当一个蛋白质从核糖体释放出来后,它便面临着各种来自细胞的调控。就像人类群体一样,一种蛋白质在细胞内的拷贝数不仅取决于产生新个体的速率,也取决于其寿命。所以,将细胞内的某蛋白质降解为氨基酸,也是一种在给定时间内调控该特定蛋白质总量的方式。蛋白质的寿命相差很大:相对永久组织,如骨和肌肉中的结构蛋白质能持续数月甚至数年;而其他蛋白质,如参与代谢的酶和调控细胞生长、有丝分裂和分裂周期的蛋白质(第 18 章会讨论)仅存活数天、数小时或数秒。细胞又是如何控制蛋白质寿命的呢?

细胞在酶的作用下把蛋白质降解为氨基酸有其特定的途径(该过程称为*蛋白酶解*)。那些将蛋白质降解为短的多肽直至为氨基酸的酶总称为**蛋白酶**。蛋白酶的作用是切割(水解)氨基酸之间的肽键(图版 2-5)。蛋白质水解途径的功能之一就是快速降解那些寿命必须很短的蛋白质,另一种功能则是识别并清除受损或错误折叠的蛋白质。去除错误折叠的蛋白质对于生物体来说是极其重要的,神经退行性病变,如亨廷顿舞蹈病、早老性痴呆症和疯牛病都是因错误折叠的蛋白集聚而引起的,这些蛋白集聚物对细胞和组织非常有害,甚至引起细胞死亡。

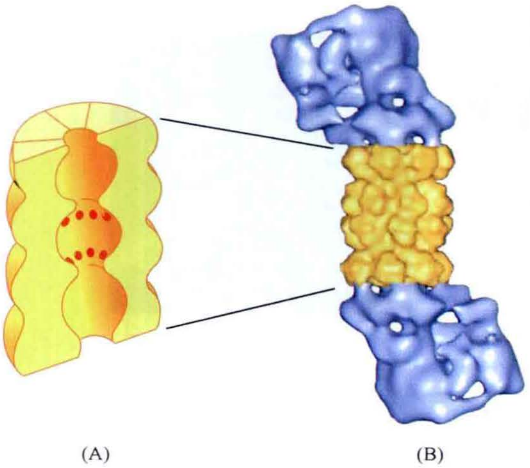


图 7-39 蛋白酶体降解短寿的及错误折叠的蛋白质。(A)由 X 射线晶体解析得到的蛋白酶体中央柱体的结构截面图,其活性部位以红点标注。(B)整个蛋白酶体的结构,黄色部分表示中央圆柱,在其两端是塞子(紫色)。(引自 W. Baumeister et al., *Cell* 92:367-380, 1998。蒙 Elsevier 惠许)

虽然大多数受损的蛋白质在细胞质内降解,但是在真核细胞内,重要的蛋白质也可以通过其他方式进行降解,如溶酶体(在第 15 章中讨论)。在真核细胞胞质内降解的蛋白质,大部分是由被称为**蛋白酶体**的生物机器所降解。一个蛋白酶体含有一个中心圆柱,由活性部位面向内腔的蛋白酶形成。圆柱的两端各由大型蛋白质复合物塞住,该复合物由至少 10 种不同的蛋白质亚基组成(图 7-39)。这些蛋白质塞子与将被降解的蛋白质结合,并且利用 ATP 水解释放的能量将需要被降解的蛋白质送入圆柱的内腔:在这里蛋白质被蛋白酶降解为短的多肽后从蛋白酶体的末端释放。将蛋白酶安置在这样一个摧毁性的分子空间内是合理的,因为这样防止蛋白酶在细胞内肆无忌惮地“乱窜”。

蛋白酶体如何选择细胞内的哪些蛋白质应进入圆柱并被降解呢?将要被去除的蛋白质通过与被称为*泛素*的小蛋白质共价结合而被标记,蛋白酶体即作用于被标记的蛋白质。特殊的酶在被选择的蛋白质上标记一个或数个泛素分子,这些泛素化的蛋白质随后被蛋白酶体一端的塞子中某个蛋白识别并吸进蛋白酶体中。

短寿命蛋白质通常可被区分出来,它们往往带有一小段氨基酸序列以标识该蛋白质将被泛素化并被蛋白酶体降解。变性或错误折叠的蛋白质及含有氧化或异常氨基酸的蛋白质,也被这种泛素依赖的蛋白质水解系统识别并降解。将泛素添加到这些蛋白质的酶能够识别由于错误折叠或化学损伤而暴露在蛋白质外面的信号,如通常埋藏在蛋白质内部而且是不可接近的氨基酸序列或具有构象的结构域。

7.2.10 从 DNA 到蛋白质之间有很多步骤

在本章中,我们已经看到从储存于基因内的信息到产生蛋白质,需要经过多步化学反应(图 7-40)。因此细胞内某种蛋白质的最终浓度取决于这些多步反应中每一步进行的效率。此外,在对细胞有生物学作用之前,许多离开核糖体的蛋白质需要进一步加工。例如,共价修饰(像磷酸化),与小分子辅助因子的结合,或者与其他蛋白质亚基的结合等往往被用于激活新合成的蛋白质(图 7-41)。

在下一章我们将看到细胞具有根据需求来调整其大部分蛋白质浓度的能力。原则上,图 7-40 内的所有步骤均可由细胞调控。然而,正如我们在下一章将看到的那样,转录起始是细胞调控基因表达的最普遍的一步。

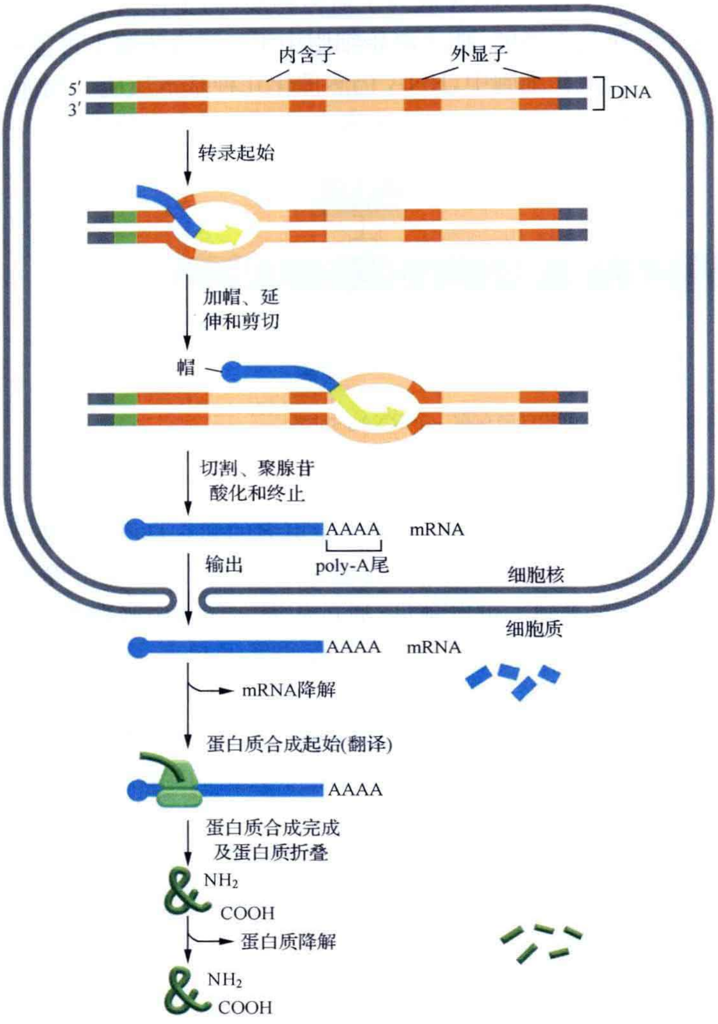


图 7-40　真核细胞内蛋白质的产生需要很多步骤。每种蛋白质的最终浓度取决于每步反应的效率。但即使蛋白质已经完成翻译，其浓度仍可通过降解来调节，还可以通过与小分子结合及其他翻译后水平的修饰来调节蛋白质的活性(图 7-41)。

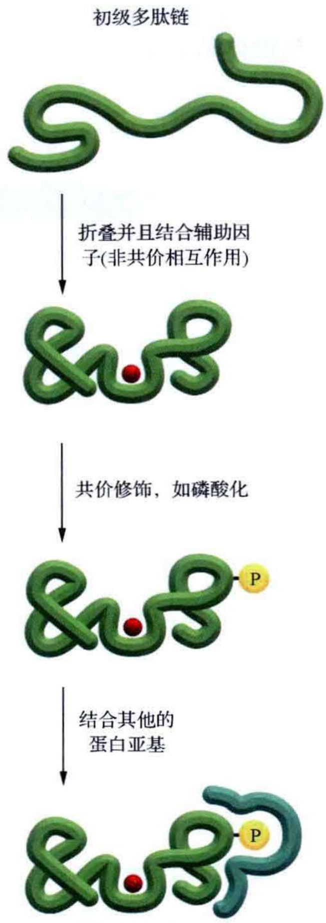


图 7-41　许多蛋白质需要额外的修饰才完全具备功能。一个蛋白质要对细胞有用，翻译完毕的多肽链必须正确无误地折叠成三维结构，结合所需的辅助因子及集结互作蛋白。非共价键主导这些变化。许多蛋白质还需要通过共价修饰来激活自身。除了最为普遍的磷酸化和糖基化作用之外，已知还有超过 100 种不同类型的蛋白质共价修饰。

转录和翻译是生命最关键的一种普遍过程。然而，当科学家开始思索信息从 DNA 流向蛋白质的可能起源时，他们得出了意想不到的结论。

7.3　RNA 和生命起源

为了充分理解现今活细胞内所发生的过程，我们需要考虑细胞是如何进化的。但在基因表达这一关键过程上我们面临了独特的挑战：假定核酸对指导蛋白质合成是必需的，而蛋白质对合成核酸又是必需的，那么这两种组分间相互依赖的系统是如何出现的呢？有一种观点认为，在现代细胞出现之前地球上就可能已经存在一个 RNA 世界(图 7-42)。根据这一假说，现今作为基因和蛋白质之间媒介的 RNA 在原始细胞中既承担了储存遗传信息的任务又具有催化化

学反应的作用。只是后来在进化过程中，DNA 替代 RNA 成为了遗传物质，而蛋白质变成了细胞的主要催化剂和结构成分。如果这个想法是正确的，那么原始细胞中 RNA 的功能不可能完全被替代，正如我们在本章中看到的那样，在现代细胞中，RNA 仍然催化几种基本反应。因而，包括核糖体和 RNA 剪接机器在内的这些 RNA 催化剂可以视为来自于远古时代的分子化石。

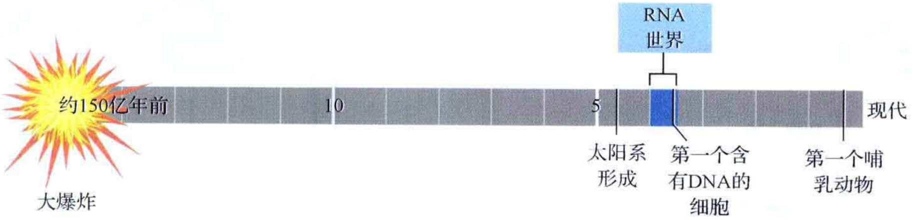


图 7-42　在现代细胞出现之前可能已经存在一个 RNA 的世界。

7.3.1　生命需要自催化

生命的起源需要具备一种关键属性的分子，即能够催化导致产生更多的和它自己一样的分子的反应，不管是直接产生还是间接产生。一旦这种特殊的自我催化剂因偶然的机会出现了，它们就能从其他物质中吸取原材料，进行自我复制。可以预见，通过从周围环境中吸取简单的原料作为燃料，一个愈加复杂的有机单体及聚合物形成的化学系统逐步发展起来，它们共同发挥作用产生出更多相同类型的分子。这样的自催化系统可能具有许多我们认为是生命物质的特性：它包含一种非随机选择相互作用分子的机制；具有自我复制的倾向性；它和依赖相同原料的系统形成竞争，而且如果剥夺了它的原料供应或者使之处于反应速率失衡的温度，它将因化学平衡衰减而“死亡”。

但是什么分子可能具有如此的自催化特性？在现今活细胞中蛋白质是最广谱的催化剂，它能够通过改变三维结构来突出其化学反应活性部位，但是没有已知的方式说明蛋白质可用于直接复制自身。而核酸在这一点都可以做到。

7.3.2　RNA 既能储存信息也能催化化学反应

我们已经看到，互补的碱基对能够以一条核酸作为模板合成另外一条。因此，一条 RNA 或者 DNA 单链可以确定其互补多核苷酸序列，反过来也就确定了原始分子的序列，从而使原始分子得以复制(图 7-43)。这种互补模板机制是现代细胞中 DNA 复制和转录的核心。

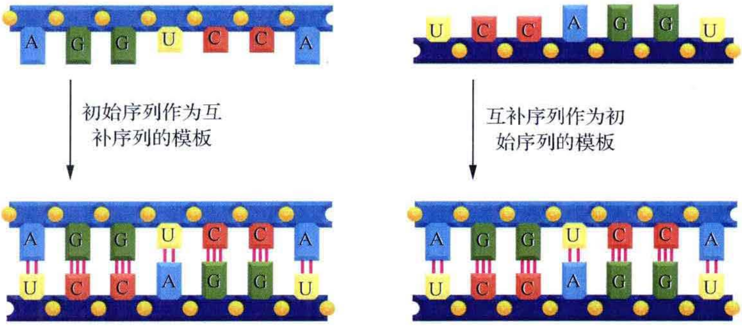


图 7-43　原则上，一个 RNA 分子可以精确地复制自身。第一步，初始的 RNA 分子作为模板，合成序列互补的 RNA 分子。第二步，互补 RNA 分子自身作为模板，合成具有初始序列的 RNA 分子。因为每个模板分子可以产生多份互补链拷贝，这些反应可导致初始序列的“倍增”。

但是这种以互补模板机制有效合成多核苷酸也需要催化剂促进聚合反应：没有催化剂，多聚体形成将会很慢，易出差错并且效率低下。现代的核苷酸聚合作用是由蛋白质酶——如 RNA 和 RNA 聚合酶——快速催化。但是，在具有合适的催化特性的蛋白质存在以前，这种反

应是如何被催化的呢？1982 年发现 RNA 自身可以作为催化剂，从而揭开了这个问题的谜底。在本章中，我们已经看到一种 RNA 分子可催化发生于核糖体上的肽酰转移酶反应。这种 RNA 分子既是信息携带者又是催化剂，这一独特潜能使它们在生命起源过程中起主要作用。

在现代细胞中，RNA 以单链分子被合成，而且同一条链内的核苷酸之间也可形成互补碱基配对（图 7-5）。这种碱基配对与“非传统”氢键一起可以使 RNA 以独特的取决于核苷酸序列的方式折叠。这些配对产生了复杂的三维折叠方式，从而使整个分子形成了独特的形状。

我们在第四章中看到，蛋白质酶之所以能催化生化反应，原因在于其表面有独特的形状和化学特性，从而使特定的底物能在其上发生反应（第 5 章）。以同样的方式，RNA 分子因其具有独特的折叠形状，可作为酶发挥作用（图 7-44）。但由于 RNA 仅由 4 种亚基组成，它们的催化效率及所催化的化学反应的范围与蛋白质相比，要有限得多。不过，已经发现核酶可以催化许多类型的化学反应。目前，绝大多数已经研究过的核酶是在实验室构建的（表 7-4）；在现代细胞中，只存在着相对来说极少的催化性 RNA。但是催化性 RNA 仍在某些重要过程中起作用，这些过程包括遗传信息表达过程中的一些最根本性的步骤——尤其是 RNA 分子被拼接和翻译成蛋白质的步骤。

因此，RNA 分子具有一个能催化自身合成的分子所应具有的一切特征（图 7-45）。尽管在自然界中尚未发现 RNA 分子的自我复制系统，科学家们已经朝着在实验室内构建的方向前进。当然这并不能证实自我复制的 RNA 分子在地球生命起源中是必不可少的，但是它提示了这种情况是可能的。

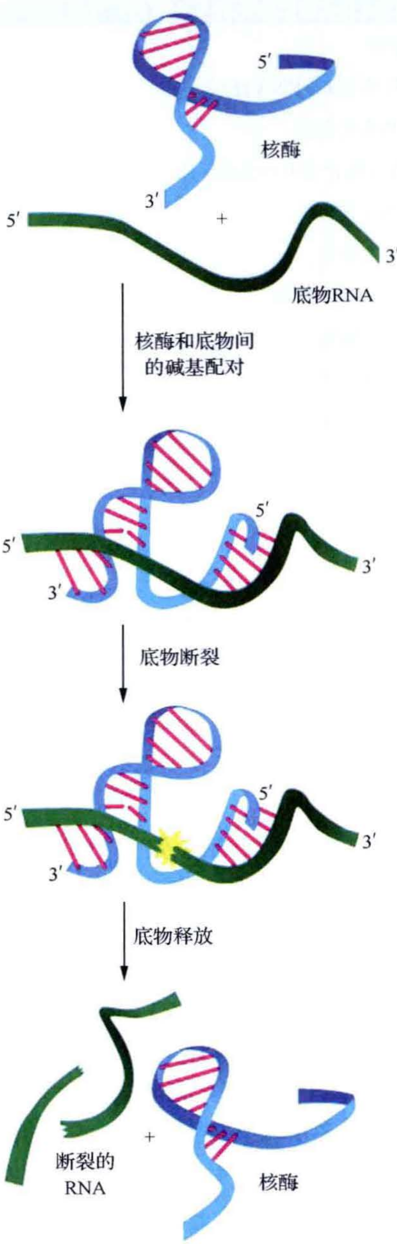


图 7-44 核酶是具有催化活性的 RNA 分子。这种简单的 RNA 分子催化另一个 RNA 在特定位点断裂。这种核酶嵌合于感染植物的较大 RNA 基因组——类病毒。在自然条件下，断裂是 RNA 基因组复制的步骤之一，它发生于包含了核酶的同一 RNA 分子的较远处。该催化反应需要一个位于底物上的断裂位点旁边的镁离子（未显示）。（改编自 T. R. Cech 和 O. C. Uhlenbeck, *Nature* 372: 39-40, 1994，蒙 Macmillan Publishers Ltd. 惠许）

7.3.3 RNA 在进化上早于 DNA

据推测，即使是与现今最简单的细胞相比，在地球上出现的第一批细胞的复杂性及自我复制的效率都要低得多。它们可能有一层简单的膜，包裹了一套自我复制的分子及提供原料和能量的其他成分。如果上述有关 RNA 的进化设想是正确的，那么这些最早期的细胞与我们了解的细胞有根本性的不同，它们的遗传物质储存在 RNA 而非 DNA 中。

表 7-4 核酶所催化的生化反应

活性	核酶
RNA 切割，RNA 连接	自我剪接的 RNA
DNA 切割	自我剪接的 RNA
蛋白质合成中肽键的形成	核糖体 RNA
DNA 连接	体外的选择性 RNA
RNA 剪接	自我剪接的 RNA，剪接体上的 RNA(?)
RNA 聚合作用	体外的选择性 RNA
RNA 磷酸化	体外的选择性 RNA
RNA 氨酰化	体外的选择性 RNA
RNA 烷基化	体外的选择性 RNA
C—C 键旋转(异构化)	体外的选择性 RNA

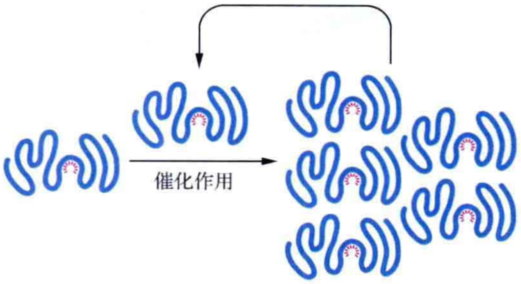


图 7-45 RNA 分子能催化自身的合成吗？这一假定的过程需要图 7-43 所示的两步催化反应。红色短线表示这种 RNA 酶的活性部位。

在进化上，RNA 先于 DNA 出现的证据可从它们的化学差异上得知。正如葡萄糖和其他碳水化合物一样，核糖(图 7-3A)可以很容易地从甲醛(HCHO)合成，而甲醛正是模拟原始地球条件的主要实验产物之一。但脱氧核糖较难合成，而且在现今的细胞中，脱氧核糖是由核糖经蛋白酶催化的反应产生。这一切都提示，在细胞中核糖先于脱氧核糖产生。很可能 DNA 出现较晚，但后来表现出它比 RNA 更适合作为遗传信息的永久储存库。特别是糖-磷酸主链中的脱氧核糖使 DNA 链比 RNA 链在化学上更为稳定，因此可以维持较长的 DNA 链而不断裂。

RNA 与 DNA 间的其他差异——如 DNA 的双螺旋结构及利用胸腺嘧啶而非尿嘧啶——由于分子更容易修复从而进一步增加了 DNA 的稳定性。在第 6 章中我们看到，双螺旋中的一条链上受损的核苷酸可以另一条链为模板修复。此外，最常见的也是最不希望见到的化学变化，就是多核苷酸上的氨基的自发丢失。相比较 RNA 而言，这种变化在 DNA 上更容易被发现和修复(图 6-23)。这是因为胞嘧啶的脱氨产物恰好是尿嘧啶，而这种碱基已经存在于 RNA 中，因此对于修复酶而言，RNA 分子内的这种损伤是无法检出的。而 DNA 含有胸腺嘧啶不含尿嘧啶，因此由胞嘧啶偶发降解所产生的尿嘧啶能够容易地被检出并修复。

总之，我们所讨论的证据都指向这样一个观点，即 RNA 同时具有遗传和催化特性，在进化上先于 DNA 出现。当出现了与现今的细胞更为相似的细胞之后，推测最初由 RNA 执行的许多功能被那些更专门适合于完成任务的分子所取代，最终由 DNA 接替了主要遗传功能，而蛋白质成为主要催化剂，RNA 则主要保留了作为两者中介的功能(图 7-46)。随着 DNA 的出现，细胞可能变得更复杂，因为与一个 RNA 分子所能稳定储存的信息相比，DNA 能携带、传递更多的遗传信息；由于蛋白质有更高的化学复杂性且能催化多种化学反应，由 RNA 向蛋白质的转移(虽然不完全)提供了更丰富的结构组分和酶的来源。这使细胞在结构和功能方面向着更

广泛的多样性进化，正如我们在今天的生命中所见到的那样。

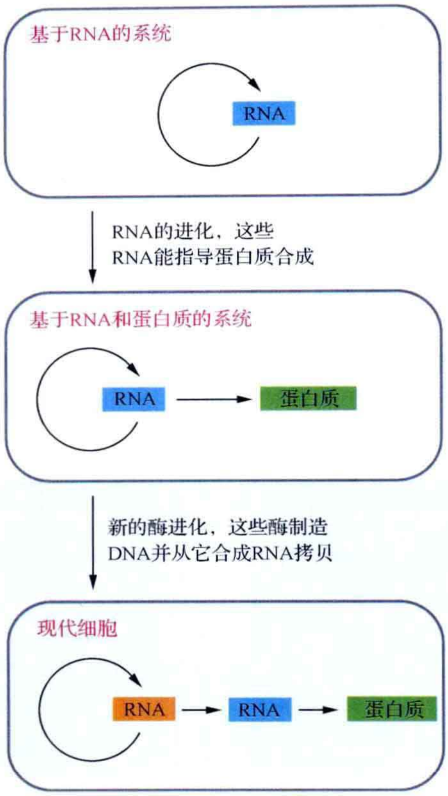


图 7-46 **进化中，RNA 可能先于 DNA 和蛋白质出现。**根据这一假设，在最早期的细胞中，RNA 集遗传、结构和催化功能于一身。现在，DNA 是遗传信息的储存库，而蛋白质则执行几乎所有催化功能。现在的 RNA 是蛋白质合成过程中的一种中介分子，只在少数重要反应中作为催化剂。

基本概念

- 所有活细胞中遗传信息的流向是 DNA→RNA→蛋白质。DNA 中的遗传指令转换到 RNA 和蛋白质的过程称为基因表达。
- 为了表达 DNA 携带的遗传信息，基因的核苷酸序列首先被转录成 RNA。转录由 RNA 聚合酶催化，DNA 上的核苷酸序列指示 RNA 聚合酶何处起始和终止转录。
- RNA 在数个方面不同于 DNA。它含有核糖而非脱氧核糖，含有尿嘧啶(U) 而非胸腺嘧啶(T)。细胞内的 RNA 以单链分子合成，并常折叠成精确的三维结构。
- 细胞合成数种不同功能类型的 RNA：信使 RNA(mRNA)携带合成蛋白质的指令；核糖体 RNA(rRNA)是核糖体的一种组分；转运 RNA(tRNA)在蛋白质合成中起接头分子作用。
- DNA 转录起始点称为启动子。真核生物 RNA 聚合酶需要在启动子上结合一个复合通用转录因子才开始转录，而细菌 RNA 聚合酶只需要结合一个称为 σ 因子的亚基即可开始转录。
- 真核生物 DNA 中，大多数基因被分隔，即小片段的编码区(外显子)被非编码区(内含子)所分隔。真核生物基因从 DNA 转录为 RNA 时，外显子和内含子都被复制。
- 内含子在核内通过 RNA 剪接过程从 RNA 转录物上被切除。在由核微小核糖核蛋白复合物 snRNP 催化的反应中，内含子从 RNA 上被切除，而外显子连接在一起。
- 在真核生物 mRNA 离开细胞核之前需要经过几个附加的 RNA 加工步骤，包括 RNA 加帽修饰和聚腺苷酸化。这些反应连同剪接一起发生在 RNA 被转录之时，随后加工后的 mRNA 被运送到细胞质中。
- mRNA 的核苷酸序列翻译为蛋白质的反应在细胞质中的大型核糖核蛋白装配体即核糖体上进行。核糖体沿着 mRNA 移动，将信息翻译成蛋白质。
- mRNA 的核苷酸序列以三核苷酸组(密码子)解读，每个密码子对应一个氨基酸。

- 氨基酸与密码子之间的对应关系由遗传密码指定。RNA 内 4 种不同核苷酸的可能组合产生了 64 种不同密码子。大多数氨基酸由不止一种密码子指定。
- 蛋白质合成中，tRNA 以连接物分子起作用。氨酰-tRNA 合成酶将氨基酸连接至正确的 tRNA。每种 tRNA 含有一段三核苷酸序列——反密码子，通过碱基互补配对与 mRNA 上的密码子匹配。
- 蛋白质合成起始于核糖体在 mRNA 上起始密码子(AUG)处的组装，该过程由称为翻译起始因子的蛋白质调控。当到达终止密码子(UAA、UAG 或 UGA)处时，完整的蛋白质链从核糖体上释放。
- 氨基酸逐步连接到多肽链上是由核糖体大亚基上的一种 rRNA 分子所催化。因此，核糖体是一种核酶——一种可以催化化学反应的 RNA 分子。
- 细胞内蛋白质的降解受到精细的调控。一些蛋白质在细胞质中被称为蛋白酶体的大型蛋白质复合物降解。
- 从我们目前对现存生物及其所含分子的知识来看，生命系统很有可能起源于 RNA 分子的进化，这些分子能催化自我复制。
- 一般认为随着细胞的进化，DNA 双螺旋取代 RNA 成为更加稳定的储存遗传信息的分子；而蛋白质取代 RNA 成为主要的催化和结构组分。然而，某些重要的反应如肽键形成仍然靠 RNA 催化；这一现象让我们得以一窥以 RNA 为基础的远古世界。

关键词

RNA	蛋白酶体	核糖体 RNA(rRNA)	起始 tRNA	遗传密码
RNA 加工	翻译	基因表达	通用转录因子	阅读框
RNA 剪接	翻译起始因子	剪接体	外显子	转录
RNA 聚合酶	反密码子	密码子	微核 RNA(snRNA)	转移 RNA(tRNA)
氨酰-tRNA 合成酶	核酶	内含子	信使 RNA(mRNA)	
蛋白酶	核糖体	启动子	选择性剪接	

问题

问题 7-1 考虑到用“中心法则”来表述遗传信息从 DNA 流向 RNA 再到蛋白质，“法则”一词在这一科学背景下是否合适？

问题 7-2 在图 7-8 所示的电镜照片中，RNA 聚合酶是由左向右还是由右向左移动？为什么 RNA 转录物比编码它们的 DNA 短很多？

问题 7-3 用于转录的 RNA 聚合酶能用来合成复制所需的 RNA 引物吗(曾在第 6 章讨论)？

问题 7-4 在 1962 年进行的一项巧妙的实验中，用化学方法将已与其对应的 tRNA 连接的半胱氨酸改为丙氨酸。这一“杂交”的 tRNA 分子随后被加入无细胞翻译系统中，该系统中正常的半胱氨酸-tRNA 结合物已被除去。分析系统中产生的蛋白质后，发现每个本该是半胱氨酸的位点都插入了丙氨酸。请讨论，这个实验告诉你，在遗传密码翻译期间，氨酰-tRNA 合成酶扮演什么样的角色。

问题 7-5 以下是 DNA 链中的一段核苷酸序列：5′-TTAACGGCTTTTTTC-3′，作为模板合成 mRNA 后被翻译为蛋白质。请推测得到的多肽的氨基端和羧基端氨基酸。假设 mRNA 的翻译无需起始密码子。

问题 7-6 讨论以下陈述：“在地球上的生命进化过程中，RNA 的地位已经从可以自我复制的催化剂的显要位置下降，现在它只是从 DNA 到蛋白质信息流动中的一个信使。”

问题 7-7 下列表述中哪些是正确的？解释你的答案。

A. 一个核糖体只能合成一种类型的蛋白质。

B. 所有的 mRNA 折叠成独特的三维结构，是翻译所必需的。

C. 单个核糖体的大小亚基总是结合在一起，而且从不交换其互作蛋白。

D. 核糖体是由单层膜包裹的胞质细胞器。

E. 因为 DNA 的两条链是互补的,所以某一基因的 mRNA 能以任一链为模板合成。

F. 一种 mRNA 可能包含序列:ATTGACCCCGGTCAA。

G. 细胞内一种蛋白质总量取决于它的合成速率、催化活性及其降解速率。

问题 7-8 Lacheinmal 蛋白质是一种假想的蛋白质,它能使人更频繁地微笑。在许多长期抑郁的人中,这种蛋白质没有活性。从同一家庭中的不同抑郁者中分离的 mRNA,与从快乐人群的对照组分离出的 mRNA 比较,发现抑郁者的 Lacheinmal mRNA 内缺少一段 173 个核苷酸的序列。快乐家庭与抑郁家庭的*Lacheinmal*基因序列已确定并进行了比较。它们的差别在于内含子区域内有一个核苷酸发生了置换。你能说出关于这一家庭的抑郁的分子机制吗?

(提示:①你能否假设一种分子机制,解释基因内置换单个核苷酸可能导致所观察到的 mRNA 内的缺失?注意这是一种 mRNA 内的缺失。②假定从 Lacheinmal mRNA 上除去了 173 个碱基对后,编码序列发生了移动。在快乐和抑郁的人之间,Lacheinmal 蛋白质将会有怎样的不同?)

问题 7-9 利用图 7-24 所示的遗传密码确定下列哪条核苷酸序列可能编码多肽序列:精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸:

1. 5′-AGA-GGA-GAU-3′
2. 5′-ACA-CCC-ACU-3′
3. 5′-GGG-AAA-UUU-3′
4. 5′-CGG-GGU-GAC-3′

问题 7-10 "tRNA 分子的反密码子与 mRNA 分子上的密码子的三个核苷酸之间形成的键是________。"填入下列三句话中的每一句,并解释所得到的陈述正确或错误的原因。

A. GTP 水解形成的共价键。

B. tRNA 位于 A 位点时形成的氢键。

C. 被核糖体沿着 mRNA 移位所破坏。

问题 7-11 列出下面三个词的在普通字典中的定义:复制、转录和翻译,并在一旁列出这些词用于活细胞时的意义。

问题 7-12 在一个地球外的世界,遗传密码以核苷酸对写成,它能给定多少种氨基酸?在另外一个世界,利用三联体密码,但是核苷酸序列无关紧要,唯一重要的是何种核苷酸的存在,这种密码能给定多少种氨基酸?你认为翻译这些密码时会遇到困难吗?

问题 7-13 遗传密码令人注目的规律性特点之一是相似化学性质的氨基酸有相似的密码子。在第二个位置上带 U 和 C 的密码子倾向于编码疏水氨基酸。对于这种现象,你能就蛋白质合成机器的早期进化方面给出一个合理的解释吗?

问题 7-14 DNA 内的一个突变导致编码一种特定蛋白质的 RNA 中部产生了一个 UGA 终止密码子。细胞内的第二个突变导致了一个 tRNA 上的单个核苷酸改变,使得翻译得到的蛋白质是正常的,也就是说,第二个突变"抑制"了第一个突变造成的缺陷。改变的 tRNA 将 UGA 翻译为色氨酸。在突变的 tRNA 分子上可能发生了什么样的核苷酸改变?这种突变 tRNA 的存在将对这个细胞内正常基因产生什么后果?

问题 7-15 tRNA 的荷载可用下述等式表示:氨基酸+tRNA+ATP ⟶ 氨酰-tRNA+AMP+PPi,PPi 是焦磷酸(图 3-40)。在氨酰-tRNA 中,氨基酸和 tRNA 以高能键相连,ATP 水解产生的大部分能量储存于这种键中,并在蛋白质合成的后期用于推动肽键的形成。此等式所表示的氨酰化反应的自由能变化接近于零,因此想必不利于氨基酸连接到 tRNA 上。你能建议一个进一步的步骤驱使反应完成吗?

问题 7-16 A. 细胞内蛋白质的平均分子量大约是 30 000。但是有少数蛋白质要大得多,已知的细胞所能合成的最大多肽链是称为肌联蛋白的蛋白质(由肌细胞合成),其分子量为 300 万。估算肌细胞需要多少时间翻译编码肌联蛋白的 mRNA(假设氨基酸的平均分子量是 120,真核细胞翻译速度是每秒两个氨基酸)。

B. 蛋白质合成很精确:每 10 000 个氨基酸连接仅发生一次错误。合成过程中没有任何差错的平均大小的蛋白质分子和肌联蛋白分子的比例是多少?[提示:得到无差错蛋白质的概率 P 以 $P=(1-E)^n$ 得出,E 是差错频率,n 是氨基酸数目。]

C. 所有真核生物核糖体蛋白质的分子量总计约为 2.5×10^6。把它们作为一个蛋白质来合成是否会更有利?

D. 转录速率约为 30 个核苷酸每秒。由此是否可以依据这里所提供的信息计算出合成肌联蛋白质 mRNA 所需时间?

问题 7-17 下述哪种突变可能对生物体造成危害?解释你的答案。

A. 在靠近编码序列的尾端插入单个核苷酸。

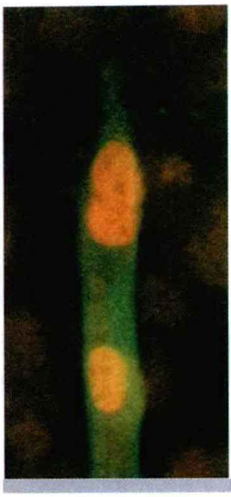
B. 在靠近编码序列的起始处移走单个核苷酸。

C. 在编码序列中部有 3 个连续核苷酸缺失。

D. 在编码序列中部有 4 个连续核苷酸缺失。

E. 在编码序列中部用一个核苷酸替换另一个。

(周桢宁　译)



8 基因表达调控

8.1 基因表达概述
8.2 转录是如何开启的
8.3 造成特异细胞类型的分子机制
8.4 转录后调控

一个生物体的 DNA 编码了其细胞所需的所有 RNA 和蛋白质分子。但是对生物体 DNA 序列的完整描述——无论是一个细菌的几百万个核苷酸还是每个人体细胞的几十亿个核苷酸——不可能使我们重建这个生物体，正如字典里的英语单词表不可能使我们再写出莎士比亚的剧本。我们需要知道，如同字典里的单词一样，DNA 序列中的元件是如何作用在一起而得到杰作的。

在细胞生物学中，这个问题就涉及**基因表达**。甚至连最简单的单细胞的细菌也能有选择地利用自己的基因，依据不同营养条件打开或关闭基因以合成不同的代谢酶类。而在多细胞植物和动物中，基因表达具有更精细的调控。胚胎发育过程中，一个受精的卵细胞产生许多在结构和功能上都截然不同的细胞类型。例如，哺乳动物的神经元和淋巴细胞差异是如此之大以至于很难想象它们含有相同的 DNA（图 8-1）。正因如此，加之成年生物体的细胞很少失去它们独特的特征，所以生物学家们原先猜想细胞特化时可能选择性地丢失某些基因。然而现在我们知道，一个多细胞生物体的几乎所有细胞都含有同样的基因组。细胞分化是通过基因表达的变化而实现的。

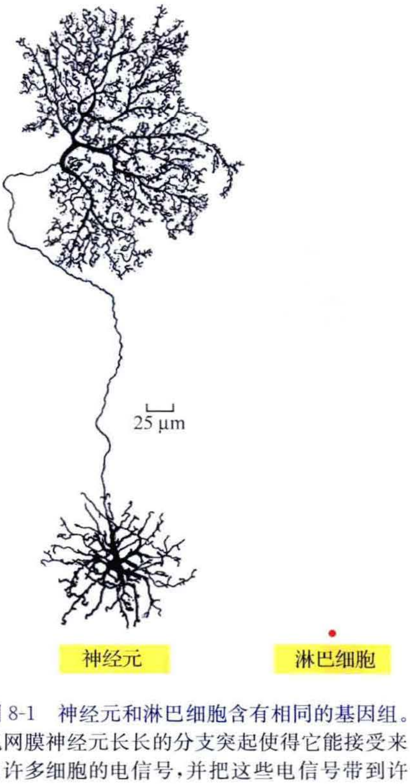


图 8-1　神经元和淋巴细胞含有相同的基因组。视网膜神经元长长的分支突起使得它能接受来自许多细胞的电信号，并把这些电信号带到许多相邻细胞。淋巴细胞是一种白细胞，与感染的免疫反应有关，能在全身自由移动。这两种细胞含有相同的基因组但表达不同的 RNA 和蛋白质。

几百种不同类型的细胞依靠只在该种类型细胞中打开的基因来执行一系列特化的功能。例如，胰腺中的 β 细胞制造一种蛋白质激素胰岛素，而胰腺的 α 细胞则分泌高血糖素；免疫系统的淋巴细胞是体内唯一制造抗体

的细胞，而发育中的红细胞是唯一制造转运氧的蛋白质——血红蛋白的细胞。神经元、淋巴细胞、肝细胞、红细胞的区别取决于基因表达的精确调控。每种类型细胞中，细胞只利用了自己基因库中的一部分基因。

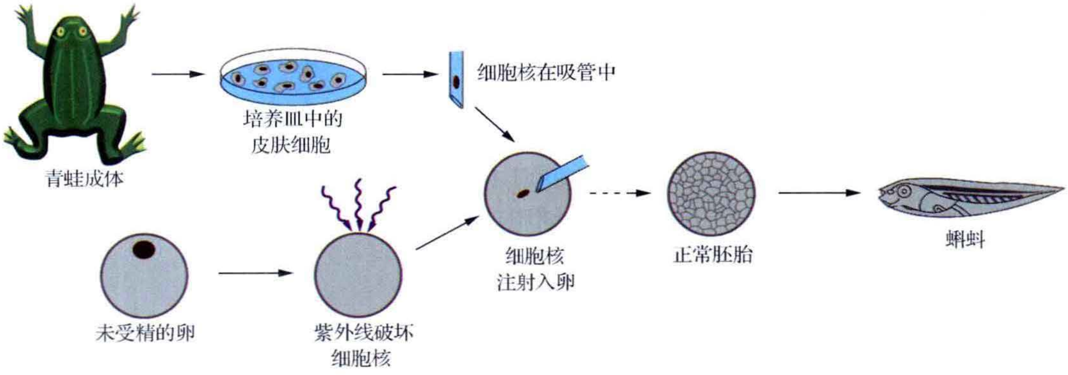
本章中，我们将讨论细菌和真核细胞中基因表达调控的主要方式。尽管一些调控机制同时适用于这两类的细胞，但由于真核细胞具有更复杂的染色体结构，因而有细菌所不具备的基因表达调控方式。

8.1 基因表达概述

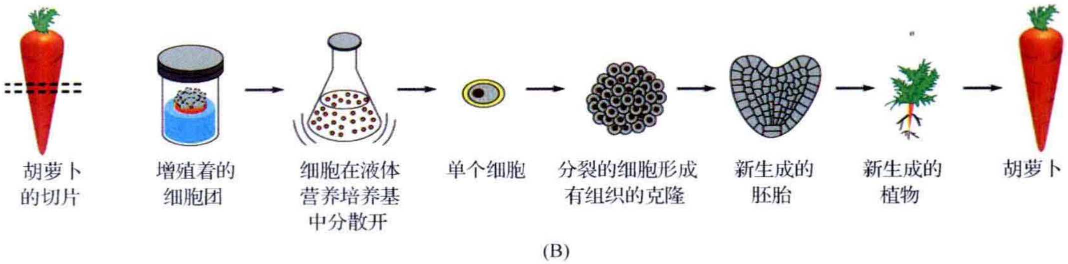
一个细胞怎么才能在几千个基因中决定出哪个基因要表达产生蛋白质呢？对多细胞生物来讲，这是一个尤为重要的问题，因为在生物发育的过程中，细胞类型如肌肉、神经、血细胞等变得互不相同，最终导致成熟生物中见到的广泛的细胞类型。这种**分化**的产生是因为细胞制造和积累了一套不同的 RNA 和蛋白质，也就是说，细胞表达了不同的基因。

8.1.1 多细胞生物中的不同类型细胞包含相同的 DNA

正如之前所讨论的，细胞有能力改变基因的表达但并不改变自身 DNA 的核苷酸序列。然而我们是怎么知道的呢？假设在发育的过程中，DNA 发生了不可逆转的改变，那么分化的细胞的染色体就不再能指导整个生物的发育。为了检验这种可能性，成体青蛙皮肤细胞的细胞核被移入已去除细胞核的青蛙卵细胞中。至少在有些例子中，青蛙正常发育为蝌蚪，表明移植的皮肤细胞细胞核不可能丢失任何重要的 DNA 序列（图 8-2）。这种核移植的实验已经在多种成体哺乳动物分化的细胞中成功地实现，包括绵羊、牛、猪、山羊和老鼠。植物实验也得出了类似的结论。例如，胡萝卜的单个细胞可以重新长成一个完整的胡萝卜植株。这些实验证实了在分化的细胞中，DNA 仍含有形成整个生物体所需的全套指令。生物体的各种细胞的不同，不是因为它们含有不同的基因，而是因为它们表达了不同的基因。



(A)



(B)

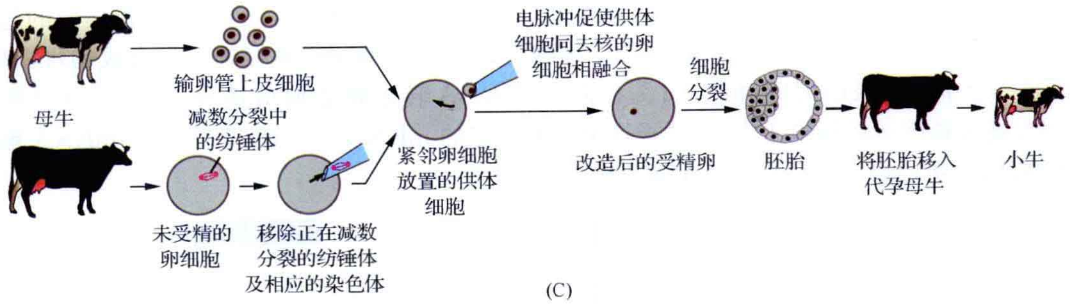


图 8-2 分化的细胞含有所有的遗传指令可以指导完整个体的形成。(A)来自成体蛙皮肤细胞的细胞核移植到去核的蛙卵中，可以得到完整的蝌蚪。虚线箭头指示着移植的基因组需要一定的时间来调整适应胚胎环境，进一步要做的移植是：将即将发育的早期胚胎中众多细胞核中的一个放回到第二个去除细胞核的卵中。(B)在许多种植物中，分化的细胞持有一种"去分化"能力，所以单个的细胞能够形成子代细胞的一个克隆，随后可以产生整个植物。(C)成体母牛的分化细胞引入到另外一头母牛的去核卵子中，可以诞生出一头小牛。由相同的分化细胞供体产生的不同的小牛在遗传学上是相同的，所以它们是彼此的克隆。[A 改编自 J. B. Gurdon, *Sci. Am.* 219(6):24-35, 1968]

8.1.2 不同细胞类型产生不同的蛋白质

不同类型细胞其基因表达的差异程度，大体上可通过双向凝胶电泳比较肝细胞、心肌细胞、脑细胞等的蛋白质组成来测定(图版 4-6)。这类实验揭示了许多种蛋白质在一个多细胞生物的所有细胞中都普遍存在。这些持家蛋白包括了染色体的结构蛋白、RNA 聚合酶、DNA 修复酶、核糖体蛋白，以及执行糖酵解和其他基本的代谢过程的酶，还有许多形成细胞骨架的蛋白质。每种不同的细胞类型也合成反映细胞独特性质的特殊蛋白质。例如，在哺乳动物中，血红蛋白是在发育成红细胞的网织红细胞中产生的，在任何别的细胞类型中都没有检测到血红蛋白。

事实上，一个细胞中产生的大部分蛋白质的数量都很少，以至于凝胶电泳无法检测出。然而一个更为灵敏的技术质谱分析法(图 4-45)却可以检测更为罕见稀少的蛋白质。这个技术甚至可以提供关于一个蛋白质是否被共价修饰(如磷酸化)的信息。基因表达的研究同样可以通过检测编码蛋白质的 mRNA 而不是蛋白质本身而实现。对人类细胞中不同 mRNA 序列的数目的估计表明，在任何时候，一个典型的已分化的人类细胞在包括 25 000 个基因的基因库中合成表达 5000～15 000 种基因。正是由于每种细胞类型表达了不同组合的基因，导致了分化细胞在大小、形状、行为和功能方面的巨大差别。

8.1.3 细胞可以响应外界信号改变自身基因的表达

多细胞生物体中的大部分特化的细胞都有能力依据所响应的细胞外信号来改变自身的基因表达模式。例如，如果肝脏细胞暴露于糖皮质激素(一种类固醇)下，几种特殊蛋白质的产量就会极大地提高。在高强度锻炼或是饥饿的时候，糖皮质激素被释放到身体中，向肝脏发出信号使其提高利用氨基酸和其他小分子合成葡萄糖的产量。被糖皮质激素诱导提高产量的蛋白质包括了酪氨酸转氨酶，该酶负责帮助转换酪氨酸成葡萄糖。当激素不再存在的时候，这些蛋白质的产量将会降到正常水平。

其他细胞类型对糖皮质激素的响应则不同。例如，在脂肪细胞中，酪氨酸转氨酶的产量是减少的，同时一些其他类型的细胞则根本不响应糖皮质激素。这些例子表明了细胞特化的一个广泛特征：不同细胞类型对同样的胞外信号以不同的方式响应。这些调整的背后是基因表达模式的特点，它不会改变，从而给予每个细胞类型永久的特殊的个性。

8.1.4 基因表达可在自 DNA 到 RNA 再到蛋白质途径中的多处步骤上被调控

如果一个有机体多种多样细胞类型的不同是取决于细胞所表达的特定的基因，那么控制基

因表达的操作是在怎样一个程度上呢？正如我们在上一章所看到的，自 DNA 到蛋白质的途径经过许多步骤，原则上每步都是可调控的。细胞可以通过下列途径来控制自身合成的蛋白质：①控制一个基因转录的时间和频率；②控制初级 RNA 转录物如何剪接或加工；③选择哪个 mRNA 被从核内运送到胞质中；④选择性地降解特定的 mRNA 分子；⑤选择哪个 mRNA 被核糖体翻译；⑥蛋白质合成后选择性地激活或失活（图 8-3）。

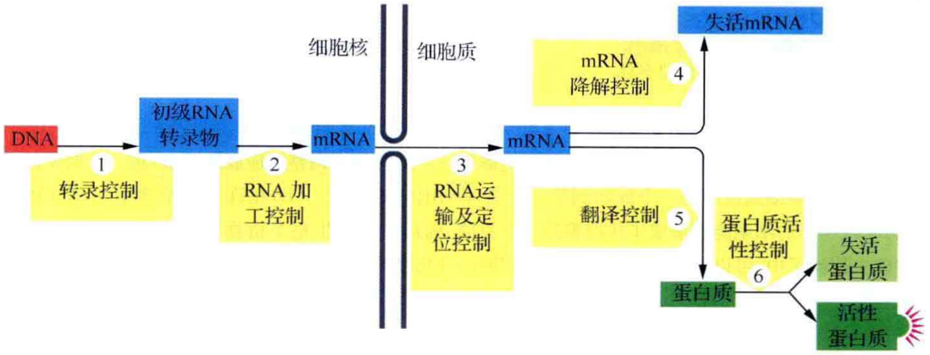


图 8-3 可调控真核生物基因表达的几个步骤。尽管对大多数基因来讲，调控的主要步骤是步骤 1，即 DNA 序列转录成 RNA，在其他步骤起调控作用的例子也有。

这些步骤的每一个都可以对基因的表达进行调控，通过本章我们将描述沿着从 DNA 到蛋白质途径中的一些关键调控点。然而，对于大部分的基因而言，转录的调控（图 8-3 的第一个步骤）是至高无上的，这是合理的，因为只有转录层面上的调控可以确保不合成多余的中间产物。因此，本章将首先重点讨论转录调控。我们将集中在一些 DNA 和蛋白质组分上，它们决定一个细胞中哪些基因转录成 RNA。

8.2 转录是如何开启的

在 50 年前基因可以被开启和关闭的想法还是革命性的。这个观念是一个巨大的进步，它最初是从对大肠杆菌适应它们培养基中成分改变的研究中而来的。许多同样的原理可以运用到真核细胞中。但是，在高等生物中基因调控的巨大复杂性，结合着将它们的 DNA 包裹成染色质，对调控带来了特别挑战和一些新的机会。现在我们将开始对转录调控蛋白——一种在转录的层面上控制基因表达的蛋白质进行讨论。

8.2.1 转录控制是通过蛋白质结合到 DNA 调节序列上实现的

转录控制通常是在转录起始步骤实现的。在第 7 章我们看见基因的启动子区域能吸引 RNA 聚合酶，并正确引导 RNA 的起始合成。细菌和真核生物的启动子都包括起始位点即转录真正开始的地方，和一个大约 50 个核苷酸、在起始位点“上游”（假如把转录的方向比作河流）的序列。这个区域包括了 RNA 聚合酶与启动子结合所需的位点。除了启动子，几乎所有基因，无论是细菌还是真核生物的，都含有激活或关闭基因所需的 **DNA 调节序列**。

一些 DNA 调节序列的长度只有 10 个核苷酸对，行使简单的基因开关功能，对一个简单的信号起反应。在细菌中，这些简单的开关占主要地位。其他的 DNA 调节序列，尤其是真核生物的，是非常长的（有时长于 10 000 个核苷酸对），这些 DNA 调节序列行使分子微处理器的功能，对很多信号做出反应，将大量的信号整合成一个决定转录起始速率的指令。

DNA 调节序列本身并不行使功能。这些序列必须被称为**转录调控蛋白**的蛋白质识别和结合才能发挥作用。DNA 序列和相关的蛋白质分子的组合是控制转录的开关。最简单的细菌编

码数以百计的转录调控蛋白，每一个都识别不同的 DNA 序列，因此可以调控不同的基因。人类的则更多，数以千计，表明了这种基因调控形式在产生复杂有机体中的重要性和复杂性。

蛋白质之所以能识别一个特殊的 DNA 序列，是因为蛋白质的表面和它所识别的那段 DNA 双链的表面特性特别吻合。DNA 的表面性质取决于核苷酸序列的不同，因此不同的蛋白质会识别不同的核苷酸序列。大多数情况下，蛋白质插入 DNA 双螺旋的大沟(图 5-7)，并和碱基对有一系列的分子接触。蛋白质和碱基对的边缘形成氢键、离子键和疏水键，通常并不破坏碱基对之间的氢键(图 8-4)。尽管每一个单独的接触很弱，但在蛋白质-DNA 界面通常形成 20 个左右的接触，保证了这种作用的高度专一性和强度。事实上，蛋白质-DNA 之间的相互作用是生物学上已知的最紧密和最专一的分子相互作用之一。

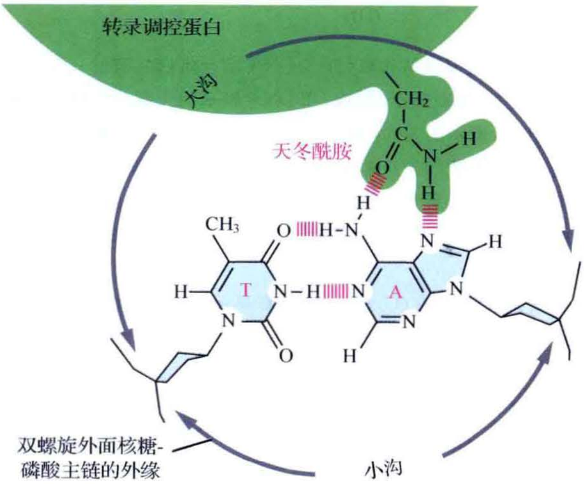
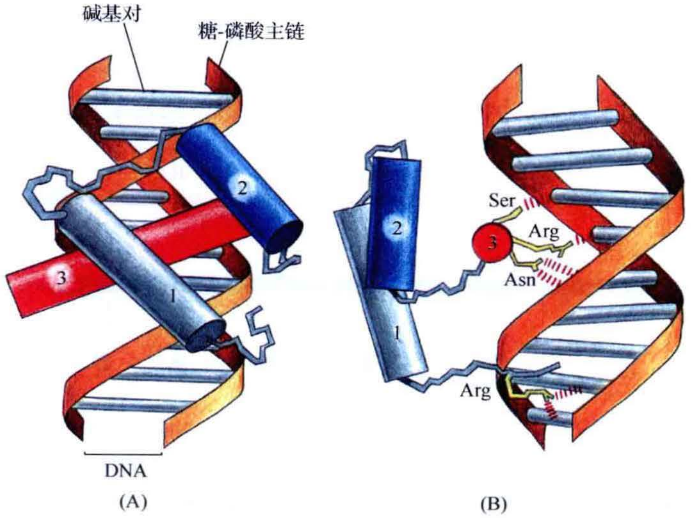


图 8-4　转录调控蛋白和 DNA 螺旋的大沟结合。蛋白质和 DNA 的碱基对的接触图中只显示了单点接触。通常，蛋白质-DNA 界面由 10～20 个这样的接触组成，每点接触和不同的氨基酸有关，每点接触都提供了蛋白质-DNA 相互作用力。

尽管在细节上，蛋白质-DNA 识别的每个例子都是独特的，但负责基因调控的许多蛋白质对于 DNA 的识别都是通过几种折叠形式中的一种来实现的。这些折叠形式和 DNA 双螺旋的大沟相配合，并和一小段 DNA 碱基对形成紧密联系。一些 DNA 结合模体的结构在图 8-5 中作了说明：同源结构域、锌指结构域和亮氨酸拉链三种模体实际上几乎在所有真核生物体的转录调控蛋白中存在，用来控制成千上万不同的基因的表达。DNA 结合蛋白经常成对(二聚体)地和 DNA 螺旋结合。二聚化使得和 DNA 接触的区域大致加倍，因而提高了蛋白质-DNA 相



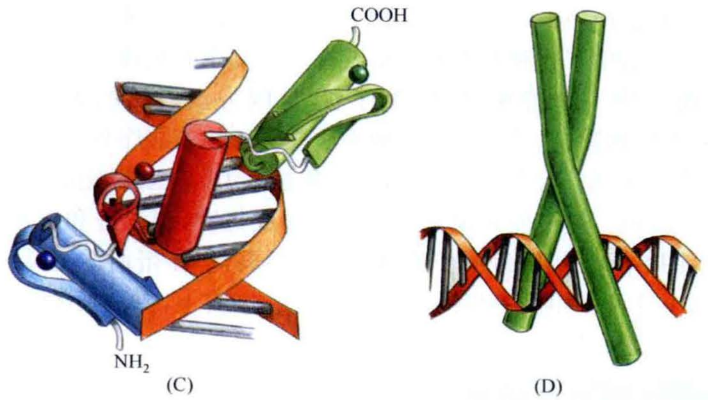


图 8-5 转录调控蛋白包含了多样的 DNA 结合模体。(A)和(B)分别是同源结构域(许多 DNA 结合蛋白共有的一个结构模体,视频 8.1)的前视图和侧视图。它由三个相连的 α 螺旋(在图中以圆柱显示)组成,和 DNA 碱基的大部分接触是由螺旋 3(在 B 中末端朝上)完成的。螺旋中的天冬酰胺和腺嘌呤以图 8-4 所示的方式接触。(C)锌指模体是一个 α 螺旋和一个 β 折叠(后者以扭曲的箭头表示)由锌分子(以颜色圆球表示)连在一起组成的。经常发现锌指以共价键相连成串,使得每个指头的 α 螺旋能接触到大沟里的碱基(视频 8.2)。此图显示了成串的三个锌指结构。(D)亮氨酸拉链模体。这个 DNA 结合模体是由两个 α 螺旋形成的,每一个螺旋由不同的蛋白质分子组成。亮氨酸拉链蛋白因此以二聚体的形式和 DNA 结合,就像晒衣绳上的衣架那样夹住双螺旋(视频 8.3)。

每个模体和 DNA 都有很多接触点。为简化起见,在(B)中只显示氢键,在(C)和(D)中没有显示任何的蛋白质-DNA 单个接触。

互作用的强度和专一性。由于两种不同的蛋白质可以成对混合,二聚化也使得众多不同的 DNA 序列可以被有限数量的蛋白质识别。

8.2.2 转录开关使细胞响应环境的改变

最简单而又了解得最清楚的基因调控的例子是在细菌及感染它们的病毒中。大肠杆菌的基因组是一个环状 DNA 分子,含有大约 4.6×10^6 个核苷酸对,共编码约 4300 种蛋白质,但是在任何时候只合成其中一部分蛋白质。大肠杆菌根据环境中的营养来源调控许多基因的表达。例如,大肠杆菌中编码制造色氨酸代谢途径中所需酶的 5 个基因在染色体上相连成簇,从一个单一启动子起始转录一条长长的 mRNA 分子,然后翻译成 5 种蛋白质(图 8-6)。当环境中存在色氨酸并进入细菌细胞时,不再需要这些酶,它们的合成也就关闭了。如在刚刚吃过富含蛋白质的食物的哺乳动物肠道中的细菌,就出现这种情形。这样排列并转录成一个 mRNA 分子的基因群,称为操纵子。那 5 个协同表达的基因是一个操纵子的一部分。操纵子在细菌中很常见,但在真核生物中没有发现,因为在真核生物中基因必须单独转录和调控。

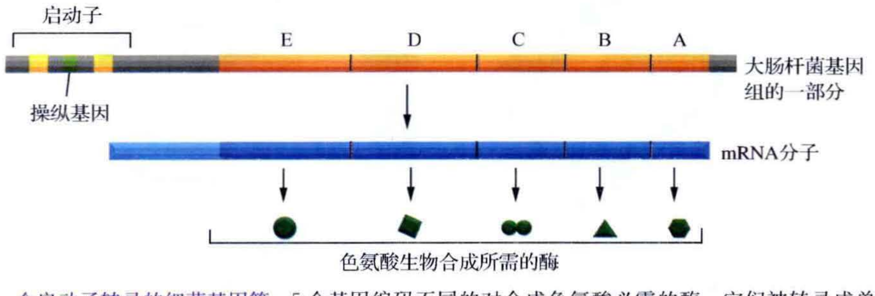


图 8-6 从同一个启动子转录的细菌基因簇。5 个基因编码不同的对合成色氨酸必需的酶。它们被转录成单个 mRNA 分子,这样可协调 5 个基因的表达。基因簇转录成单个 mRNA 分子在细菌中是非常普遍的,每一个这样的基因簇称为操纵子。图示的色氨酸操纵子的表达由位于启动子内称为操纵基因的调控序列所调控。

现在我们已经在大量的细节上明白色氨酸操纵子是如何作用的。启动子内的一小段 DNA 序列(15 个核苷酸长)被转录调控蛋白识别。当蛋白质结合了这段被称为操纵基因的核苷酸序列时,它就阻止了 RNA 聚合酶和启动子结合的接近,从而阻止操纵子的转录和色氨酸合成酶的产生。这个转录调控蛋白称为色氨酸阻抑物,它以精巧的方式调控:阻抑物只有结合了几个色氨酸分子后才和 DNA 结合(图 8-7)。

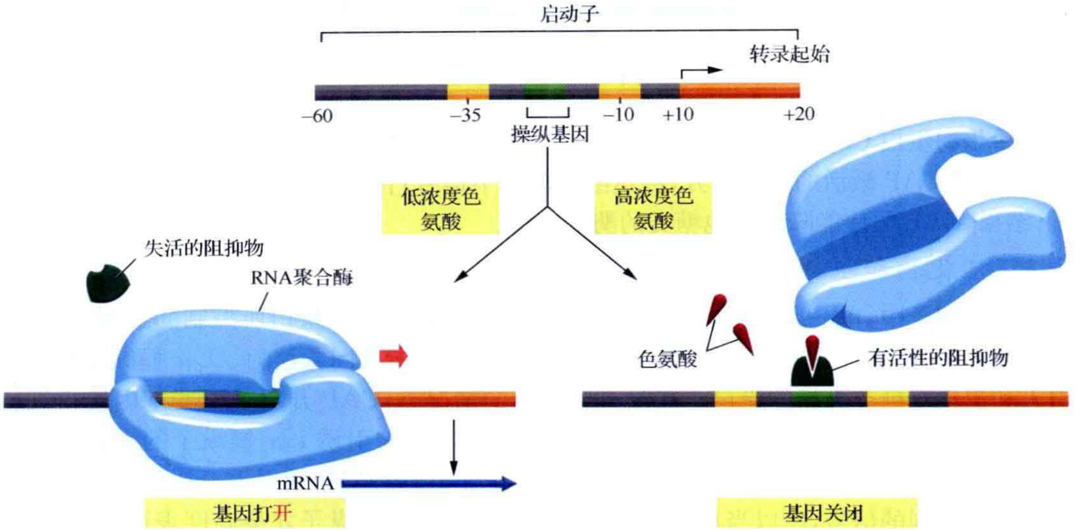


图 8-7 阻抑物打开或关闭基因。如果细胞内的色氨酸水平很低,RNA 聚合酶(蓝色)结合在启动子上面并转录色氨酸操纵子的 5 个基因(左图)。如果色氨酸水平很高,阻抑蛋白(深绿色)变得活跃,结合在操纵子(浅绿色)上从而阻断了 RNA 聚合酶和启动子的结合(右图)。只要胞内色氨酸水平下降,阻抑物就释放出它结合的色氨酸并从 DNA 上脱开自身,使聚合酶再次转录操纵子。启动子中有两块 DNA 序列用黄色标记了出来,分别是 −35 和 −10 区域(图 7-10)。完整的操纵子在图 8-6 中显示。

色氨酸阻抑物是一个变构蛋白(图 4-37):只有在结合了色氨酸、三维结构发生微妙的改变后它才能和操纵基因序列结合。当细胞中游离的色氨酸变少时,阻抑物不再结合色氨酸,也就不能结合 DNA。然后,色氨酸操纵子转录。因此阻抑物就是一个简单的装置,能根据酶催化途径的终产物的可获得性,开始或关闭一套生物合成酶的产生。

细菌之所以能对色氨酸浓度的上升迅速发生反应是因为色氨酸阻抑物本身总是存在于细胞中。编码阻抑物的基因一直以低水平转录,始终有少量的阻抑物蛋白产生。这种不被调控的基因表达称为组成型基因表达。

8.2.3 阻抑物关闭基因,活化物开启它们

顾名思义,色氨酸阻抑物在其活化的时候是一个关闭基因或阻抑基因的**阻抑物**蛋白。另一些细菌转录调控蛋白是以相反的方式在操纵:打开基因或激活基因。这些**活化物**蛋白作用于启动子。与色氨酸操纵子的启动子相反,这些活化物蛋白作用的启动子本身结合和定位 RNA 聚合酶的功能很弱,例如,它们可能很难被聚合酶识别。然而,通过一种激活蛋白的帮助,这些功能本来很弱的启动子可以变得有完整的功能。这种激活蛋白能和附近的 DNA 位点结合,帮助和 RNA 聚合酶的接触从而起始转录(图 8-8)。在一些例子中,一个细菌的转录调控蛋白可以在一个启动子上抑制转录,而在另一个启动子上活化转录。一个调节蛋白何时作为活化物何时作为阻抑物,在很大程度上取决于调节蛋白所结合的调节序列对于启动子而言的准确位置。

和色氨酸阻抑物类似,活化物蛋白通常必须和第二个分子相互作用才能结合 DNA。例如,

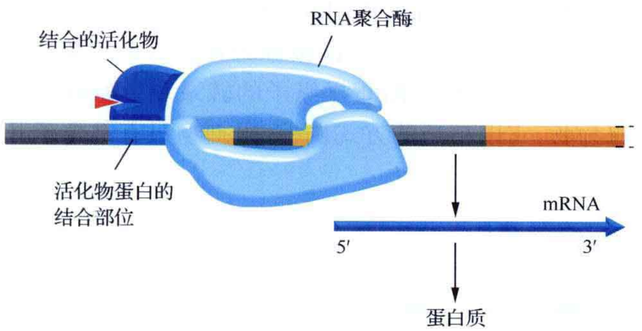


图 8-8　活化物控制基因表达。活化物和 DNA 上的调控序列结合，然后和 RNA 聚合酶相互作用，帮助聚合酶开始转录。没有活化物，启动子就不能高效地起始转录。细菌中，活化物和 DNA 的结合经常被活化物和一种代谢产物或其他小分子（红色三角）间的相互作用所控制。例如，细菌活化物 CAP 在和 DNA 结合前必须先和 cAMP 结合，因此 CAP 可以响应胞内 cAMP 浓度的升高从而使基因打开。

细菌的活化物蛋白 CAP 必须和环化 AMP（cAMP）结合后才能结合 DNA。随着胞内 cAMP 浓度的上升，被 CAP 激活的基因打开，传达给细菌一个信号：作为细菌所偏爱的碳源葡萄糖已没有了；结果，CAP 驱使能降解其他糖类的酶的产出。

8.2.4　活化物和阻抑物控制 *Lac* 操纵子

在众多例子中，单一启动子的活性是由两个不同的转录调控蛋白所控制的。例如，在大肠杆菌中的 *Lac* 操纵子是被 Lac 阻抑物和活化物蛋白 CAP 所共同调控的。*Lac* 操纵子编码了用于引入和消化双糖类乳糖的蛋白。在没有葡萄糖的情况下，CAP 开启了一些基因使得细胞可以利用替代的碳源，如乳糖。当然，当没有乳糖的时候，CAP 引诱 *Lac* 操纵子的表达是很浪费的。所以，Lac 阻抑物会在没有乳糖的时候关闭操纵子。这种安排使得 *Lac* 操纵子的调控部位整合了两个不同的信号，所以当且仅当满足下面两个条件时操纵子才会高度表达：有乳糖而且没有葡萄糖（图 8-9）。这个遗传学上的回路表现的就像在计算机上实现逻辑操作的一个开关。

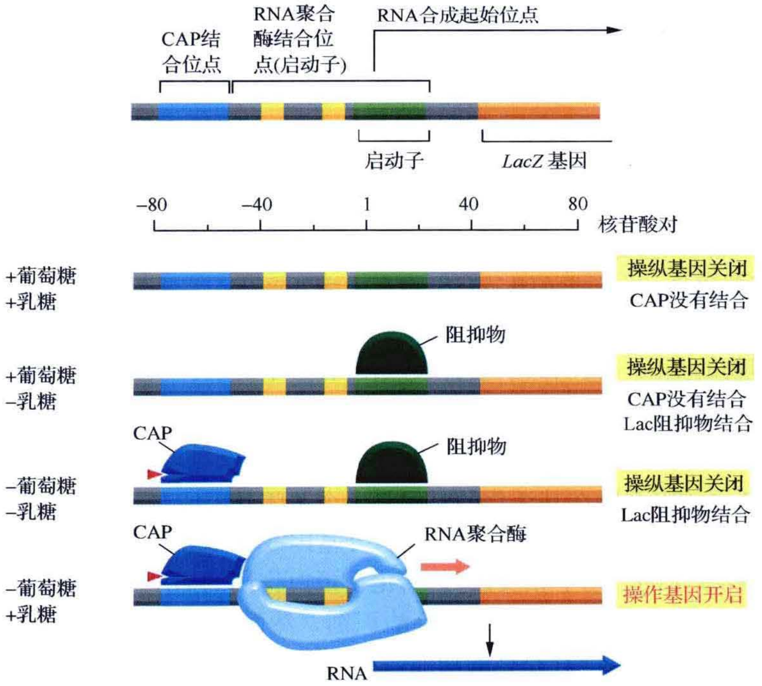


图 8-9　*Lac* 操纵子被两种信号所控制。葡萄糖和乳糖的浓度通过它们对 Lac 阻抑物蛋白和 CAP 的作用来控制 *Lac* 操纵子的转录起始。当乳糖缺失时，Lac 阻抑物结合在 *Lac* 操纵子上从而关闭操纵子的表达。乳糖的增加将提高胞内相关化合物异乳糖的浓度。异乳糖结合在 Lac 阻抑物上，促使后者产生构象上的改变从而释放夹住的操纵子 DNA（未在图中显示）。当葡萄糖缺失的时候，细胞生成 cAMP（红色三角），CAP 结合在 DNA 上。*LacZ* 作为操纵子的第一个基因，编码着 β-半乳糖苷酶，该酶可以将乳糖分解为半乳糖和葡萄糖。

当乳糖存在且葡萄糖不存在的时候,细胞执行恰当的程序:在本例中为转录那些允许吸收并利用乳糖的基因。

Lac 操纵子精细的逻辑操作首次吸引生物学家的注意是 50 多年前。这个开关的分子基础是通过遗传学和生物化学的结合而发现的,首次提供了对基因表达是如何调控的深刻理解。在真核细胞中,相似的基因调控设备相互结合,产生了逐步复杂的回路。实际上,使受精卵变为成熟个体的发育过程可以认为是一个极度复杂的回路,这个回路中包含了众多类似于控制 *Lac* 操纵子和色氨酸操纵子这样的简单原件。

8.2.5 真核基因转录调控蛋白从远处控制基因表达

我们已经看见细菌采用转录调控蛋白(活化物和阻抑物)来调控它们基因的表达,真核细胞也采用相同的基本策略。最初将真核基因活化物结合的 DNA 位点称为**增强子**,因为它们的存在极大地增强或提高了转录速率。1979 年,当人们发现这些活化物可以和离启动子几千个核苷酸之外的 DNA 结合从而增强转录时,生物学家们都非常吃惊。再者,真核活化物无论结合在启动子的上游或下游均能影响转录。于是带来了问题:这些增强子序列和同它们所结合的蛋白质是怎样通过长距离起作用呢? 它们和启动子是怎样通信的呢?

人们已经提出了许多"远距离作用"的模型,但最简单的一个似乎能适用于大多数情况。在增强子和启动子之间的 DNA 呈环状突出,这样,和增强子结合着的活化物蛋白就能直接影响到那些在启动子上发生的事件了(图 8-10)。因此 DNA 的作用就如同一个绳拴,使结合在增强子上的蛋白质可以和远在几千个核苷酸对外的启动子附近蛋白质(包括 RNA 聚合酶Ⅱ和通用转录因子,图 7-12)发生相互作用。通常情况下,有其他的蛋白质用于将远端结合着的转录调控蛋白连接到启动子上的蛋白质;最重要的是一个蛋白质的巨大复合体——**中介体复合物**(mediator)(图 8-10)。真核活化物蛋白质作用的一种途径是通过在启动子上协助通用转录因子和 RNA 聚合酶的组合而实现的。真核阻抑物正好相反:它们通过阻止或妨碍同样蛋白质复合体的组合来减少转录。

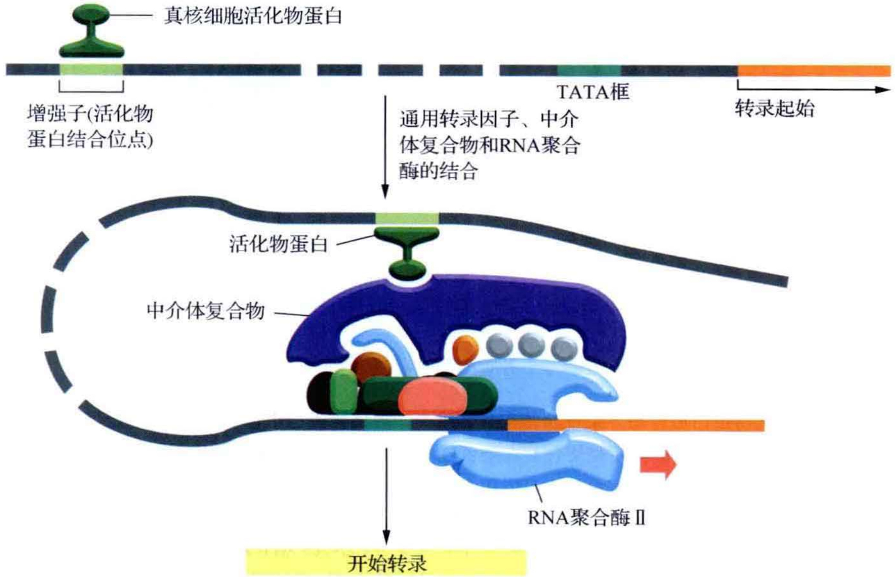


图 8-10 真核生物中远距离基因激活的模型。活化物蛋白结合在 DNA 上吸引着 RNA 聚合酶和通用转录因子(图 7-12)到启动子上面。环化的 DNA 允许结合到增强子上面的活化物蛋白与结合在启动子上面的转录复合物相互接触。此例中,一个大的称为转录中介体的蛋白质复合体起着媒介的作用。DNA 的虚线部分表示在增强子和转录起始位点间的 DNA 长度是变化着的,有些时候长度可达到几万个核苷酸对。

除了促进或抑制转录起始复合体的组合之外，真核转录调控蛋白还有一个作用机制：它们吸引那些可以调整染色质结构的蛋白质，从而影响通用转录因子和 RNA 聚合酶同启动子的接触能力，我们随后将会讨论这点。

8.2.6 启动子 DNA 包装成核小体会影响转录起始

真核细胞转录的起始也必须考虑到 DNA 包装成染色质。正如我们在第 5 章中看到的，真核细胞中的遗传物质被包装成核小体，然后依次折叠成高级结构。那么转录调控蛋白通用转录因子和 RNA 聚合酶是如何有能力接触这种 DNA 的呢？核小体如果位于启动子处就能阻碍转录的起始，这可能因为核小体物理上阻止了通用转录因子或 RNA 聚合酶在 DNA 上的装配。事实上，这种染色质的包装是和阻止基因表达的泄漏（在没有适当的活化物下起始转录）有一定的联系的。

在真核细胞中，活化物和阻抑物蛋白借用了染色质的结构来帮助它们开启或是关闭基因。正如我们在第 5 章所看到的，染色质的结构可以通过染色质重塑复合物而改变，或是通过一种共价修饰组蛋白（核小体的核心）的酶而改变（图 5-27，图 5-28）。很多基因活化物为了利用这些机制就招募这些蛋白质到启动子上（图 8-11）。例如，许多转录活化物吸引组蛋白乙酰化酶，该蛋白将一个乙酰基连接在组蛋白尾端一个选定的赖氨酸上。该修饰改变了染色质的结构，很大程度上使潜在的 DNA 更容易接近；此外，乙酰基本身可被促进转录的蛋白质包括一些通用转录因子所识别。

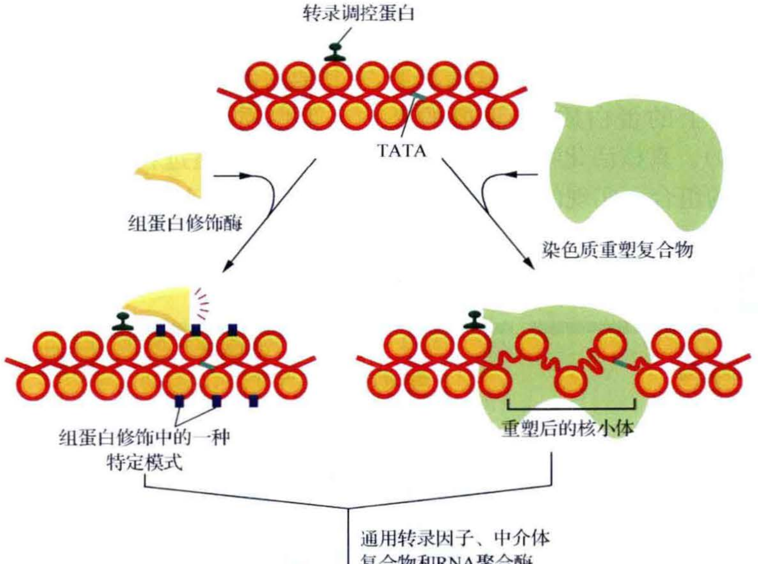


图 8-11 **真核生物基因活化物蛋白可以指导染色质结构局部改变。**活化物蛋白可以在基因的启动子区域上募集组蛋白修饰酶和染色质重铸复合体。这些蛋白的作用是使包装在染色质中的 DNA 更易于被细胞中的其他蛋白质（包括那些转录起始需要的蛋白质）所接触到。此外，共价组蛋白修饰可以作为激活转录起始蛋白质的结合位点。

同样地，基因抑制蛋白可以改变染色质从而减少转录起始的效率。例如，很多阻抑物吸引组蛋白去乙酰基酶——该酶将组蛋白尾端的乙酰基团去除，从而将乙酰化对于转录起始的积极作用逆转。尽管部分真核阻抑物蛋白是通过对单个基因逐一抑制的原理工作的，但是其他的则有能力协调地形成一大条染色质带，其中包含的众多基因的转录均被失活。如第 5 章讨论的，这些 DNA 上无转录活性的区域包括间期染色体中发现的异染色质和雌性哺乳动物的整条 X 染色体。

8.3 造成特异细胞类型的分子机制

所有的细胞都必须能够响应各自环境中的信号从而开关基因。但是多细胞生物体中的细胞却将这个能力进化到了一个极端的程度，以高度特化的方式形成了各种分化细胞类型的有组织的排列。特别地，一旦多细胞生物体中的一个细胞开始了走向分化成特异细胞类型的道路，这个命运的选择将会在众多后继子代细胞中保留下来。这意味着，常常是被一个瞬时信号所激发的基因表达上的改变需要被牢牢记住。*细胞记忆*这个现象对于组织器官的形成和维持稳定的细胞分化类型是一个先决条件。与之相反，真核生物和细菌中基因表达的最简单改变往往仅仅是瞬间的；例如，在细菌中，仅仅只当环境中存在色氨酸的时候，色氨酸阻抑物才会关掉色氨酸基因的表达；一旦氨基酸从环境中移除，基因又被重新开启，细胞的后代不会有任何关于它们的祖先曾经接触过色氨酸的记忆。

在这节中，我们将会讨论一些在多细胞生物转录调节中发现的特色。我们的重点将集中在这些机理是如何产生的，以及是如何维持迥异的细胞类型使得蠕虫、苍蝇和人类有各自不同的特征。

8.3.1 真核基因是由蛋白质组合来调控的

由于真核转录调控蛋白能与距启动子很远的 DNA 结合而控制转录，所以控制一个基因表达的 DNA 序列可能散布在很长一段 DNA 上。在植物和动物中，一个基因的调控序列星罗棋布，相距成千上万个核苷酸对并不是很少见的，尽管这些 DNA 序列大部分仅起“间隔”序列的作用而并不被转录调控蛋白所识别。

到现在为止，在本章中我们把转录调控蛋白看作各自单独起作用，去打开或关闭一个基因。尽管这个观点对许多细菌活化物和阻抑物来说是适用的，但大部分真核转录调控蛋白是作为调控蛋白“委员会”的一部分而起作用的，而这个“委员会”中所有的调控蛋白对于基因在适当的细胞中、适当的条件下和适当的时候以及在所需的水平上进行表达都是必需的。

“组合控制”这个词是指一组调控蛋白共同作用来决定一个基因的表达。当讨论细菌 *Lac* 操纵子的时候(图 8-9)，我们见过这种通过多信号来调控的一个简单例子。在真核细胞中，调控的输入信号被放大了，一个典型的基因被好几十个转录调控蛋白所控制(图 8-12)。通常情况

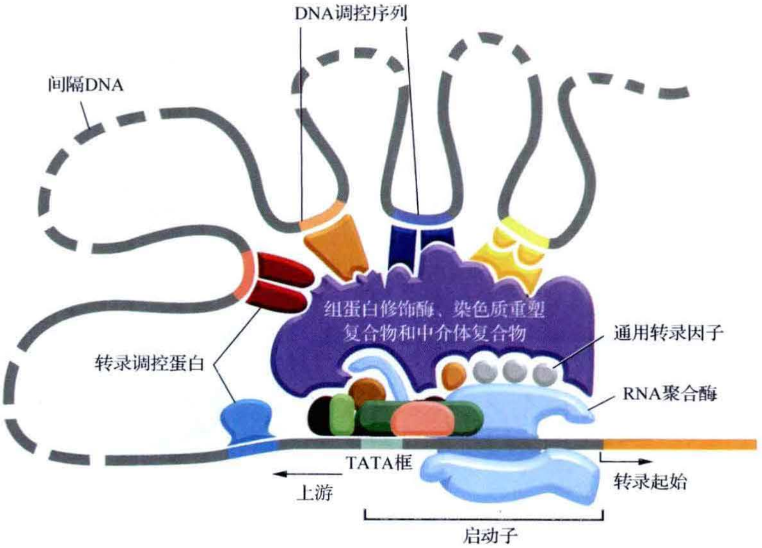


图 8-12 转录调控蛋白如同“委员会”一样共同作用来控制真核生物基因的表达。在启动子处装配的通用转录因子对所有由聚合酶Ⅱ转录的基因来讲都是相同的，而转录调控蛋白和结合部位相对于启动子的位置在不同的基因则是不相同的。多个转录调控蛋白的组合效应决定了转录起始的效率。然而，至今还没有了解清楚这些多重输入是如何整合的。

下，这些调节蛋白有些是阻抑物而另一些是活化物；对于所有这些蛋白质的效应加起来以决定一个基因表达最终水平的分子机制，我们才刚刚开始了解。关于这种复杂调节系统的例子可以在“我们如何得知”中看到。

我们如何得知：基因调控——*Eve* 的故事

对于一个多细胞生物来说，要从一个受精卵正常发育到成熟个体，调节基因表达的能力可以说是性命攸关的。在发育的最早期阶段，一系列程序调控着基因的差别表达，从而使动物形成正确的身体布局——帮助区分开背部和腹部还有头部和尾部。这些细节最终指引着器官正确的分布，包括翅膀还是腿部，嘴巴还是肛门以及神经元还是性细胞。

那么接着在发育过程中的一个核心问题就是一个生物体是如何在受精后的数小时内制定出这些基因表达模式的？这个故事的一大部分是依赖于转录调控蛋白的作用。通过和不同的 DNA 调节序列相互作用，这些蛋白指导着胚胎中的每一个细胞在发育进程中的每一个时间点上开启适当的基因。那么一个蛋白质结合在一小段 DNA 上是如何控制一个复杂多细胞生物的发育呢？为了阐明这样一个大问题，我们现在回顾一下 *Eve* 的故事。

在巨型卵中

Even-skipped 简写为 *Eve*，它的表达在果蝇胚胎发育中起着关键作用。如果该基因因突变而失活的话，胚胎的很多部分就无法形成，果蝇幼虫将在发育早期死亡。当 *Eve* 基因第一次在发育阶段的时候开启，此时胚胎还处于一个单个巨大的细胞的阶段，包含着众多的细胞核浮游在同一个细胞质中。这个胚胎大约长 400 μm，直径有 160 μm。它是由受精卵经过一系列快速的核分裂同时胞质不分裂而形成的。最终每一个细胞核都将被一个质膜所包裹形成一个细胞，但是我们所关心的事件发生在这个细胞化过程之前。

这个巨型卵中的细胞质绝对不是均匀的：胚胎前端（头部）所包含的蛋白质和后端（尾部）的蛋白质是截然不同的。这种在受精卵和早期胚胎中不对称的现象最初是通过果蝇卵泄漏实验来证明的。如果小心地刺穿卵的前端，使得一小部分前端细胞质泄漏出来，那么这个胚胎将不会发育出头部体节。更进一步，如果此时再将从另外一个卵的后端部位取出来的细胞质注射到这个多少有点缺失的前端区域，那么在这个动物应该长着脑袋的地方就会发育出第二套腹部体节（图 8-13）。

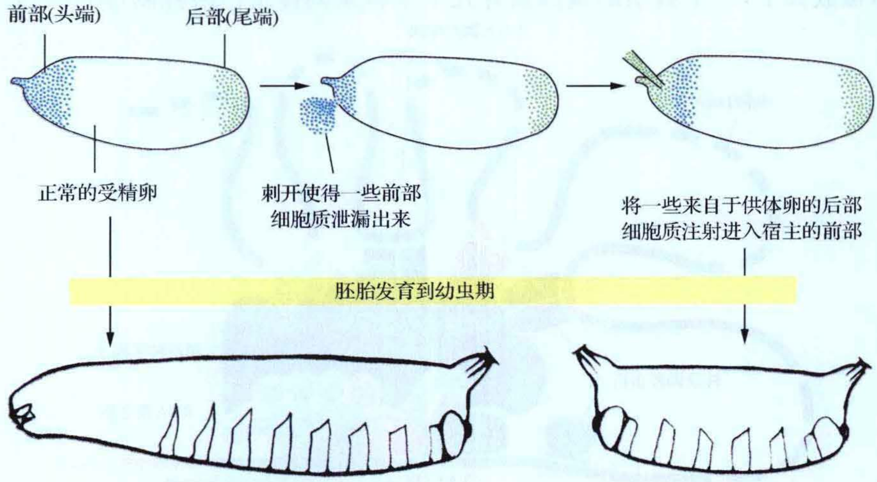


图 8-13　定位在果蝇卵末端的分子控制前后轴的极性。在卵头部的一小部分细胞质被泄漏出来，取而代之以尾端的细胞质注射。这个操作的结果就是出现了双尾部的胚胎（右图），最后三个腹部体节被重复了。一个正常胚胎（左图）作为对照。（引自 C. Nüsslein-Volhard，H. G. Frohnhöfer，and R. Lehmann，*Science* 238：1675-1681，1987）

发现蛋白质

这个卵泄漏实验显示了头部到尾部模式的正常发育是由定位在胚胎两个末端中的物质所控制的。研究人员估计这些物质正是蛋白质。为了鉴别它们,研究人员对卵进行了随机抑制一些基因的处理。然后寻找那些头尾身体布局看起来异常的胚胎。在那些突变的动物中,紊乱的基因一定正是编码那些对于建立正常前后极性至关重要的蛋白质的基因。

利用这个策略,研究人员发现了很多建立前后极性所需要的基因,其中包括了编码 4 个关键转录调控蛋白的基因:Bicoid、Hunchback、Kürppel 和 Giant(果蝇基因通常被给予了有趣的名字,反映出该基因突变失活后果蝇的表型)。一旦鉴定出来这些蛋白质,研究人员就可以制造出识别它们的抗体。接着用这些偶联了荧光标记的抗体测定每一个蛋白质在胚胎早期定位在何处(图版 1-1)。

这些抗体染色的实验结果是令人震惊的。它们显示出来早期胚胎的细胞质包含了这些转录调控蛋白的混合,每种蛋白质沿着胚胎的长度都有各自独特的分布模式(图 8-14)。结果就是:在这个巨大而多核的细胞里面的细胞核,根据它们各自接触转录调控蛋白的不同而表达不同的基因,而这又反过来是由每一个细胞核在胚胎中的位置所决定的。例如,靠近胚胎前端的细胞核所遇到的一组转录调控蛋白和游弋在后端胞质中的细胞核所遇到的是截然不同的。因此,这些蛋白质的不同给在发育着的胚胎中的众多细胞核提供了胚胎沿着前后轴的位置信息。

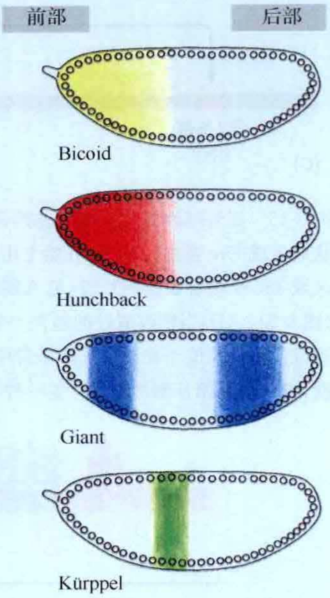


图 8-14　早期果蝇胚胎展现出 4 个调控蛋白的非均一分布。

这就是 *Eve* 的出处。*Eve* 基因的 DNA 调节序列可以识别沿着胚胎长度每一个位置的转录调控蛋白的浓度。根据这个信息,*Eve* 在 7 条带上表达,每一条带都位于胚胎前后轴的精确位置上面。为了探明这些调控蛋白是如何这么精确地控制 *Eve* 的表达,研究人员接下来将目光着眼于 *Eve* 基因的调控区域。

剖析 DNA

正如我们在这章所见到的,DNA 调节序列控制着生物体中哪个细胞表达哪种特定蛋白,并且控制着这个基因在何时会被开启。知晓一个 DNA 调节序列在何时何地活跃的一种方式就是将其和**报告基因**连接在一起。报告基因所编码蛋白质的活性在实验上很易于检测。于是 DNA 调节序列现在驱动了报告基因的表达。这段人造的 DNA 构件再重新引入到一个细胞或是一个生物体中,就可以测量报告蛋白的活性。

通过将 *Eve* 调节序列的多个部分和报告基因偶联,研究人员发现 *Eve* 基因包含了一系列共 7 个调节组件,每一个都对应着 *Eve* 沿着胚胎特异表达的一条带。因此,研究人员就可以把诸如约束第 2 个条带表达的调节组件从 *Eve* 正常的上游序列中去除,将其放在一个报告基因的前面,再将这段改造序列重新引入到果蝇的基因组里面(图 8-15A)。当检查携带有这种遗传构件的胚胎时,报告基因就被发现精确地在第 2 个条带的位置上表达(图 8-15B)。类似的实验揭示了其他调节组件的存在,每一个都分别对应着其他那 6 条带。

问题又随之而来:每一个组件是如何指导在一个特定的位置形成一条带的呢?研究人员发现答案是在于每一个组件包含有一个独特的调节序列的组合,这些调节序列又和 4 个转录调控蛋白不同的组合结合,这些转录调控蛋白在早期胚胎中是以梯度的方式存在的。例如,第 2 条带组件包含的识别序列针对所有 4 个调控蛋白——Bicoid 和 Hunchback 激活 *Eve* 的转录,Kürppel 和 Giant 抑制它(图 8-16)。这 4 个蛋白质的浓度在胚胎里面是变化着的(图 8-14),正是这些变化决定了沿着胚胎中的每一个位置上面是哪些蛋白质结合在 *Eve* 的 2 号条带组件上面。结合的蛋白质组合然后“告诉”合适的细胞核表达 *Eve*,从而形成了 2 号条带。

其他的条带调控组件被认为沿着相似的线路发挥作用;每一个组件都读取由转录调控蛋白独特的组合所提供的位置信息,并据此表达 *Eve*。整个 *Eve* 基因调控区域有超过两万个 DNA 核苷酸对串成一串,结合着超过 20 个转录调控蛋白(包括这里讨论的 4 个)。这个巨大而复杂的调控区域是由一系列较小的组件组成的,

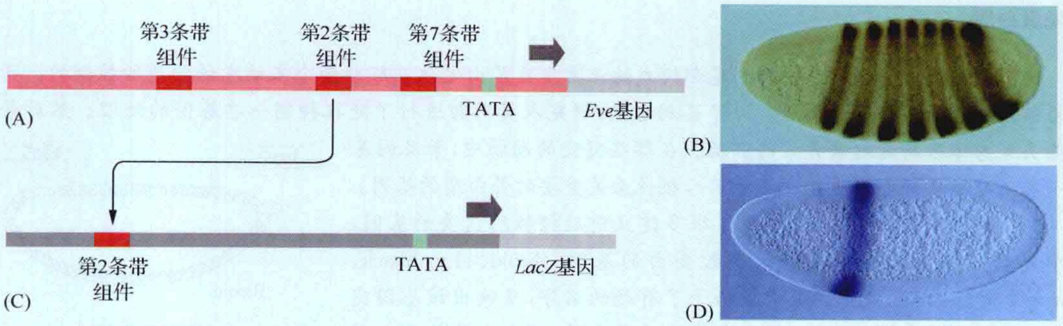


图 8-15　报告基因揭示了 *Eve* 基因调控区域的组件化构造。(A)*Eve* 基因包含了调节序列可以指导其在胚胎上呈条纹状地生成 Eve 蛋白。(B)在胚胎上用 Eve 蛋白的抗体染色，展现出 7 条典型的 Eve 条带。(C)在这个实验中，*Eve* 调控区域 480 个核苷长度的片段(见 A 图的 2 号条带组件)被移下来插入到大肠杆菌编码 β-半乳糖苷酶的 *LacZ* 基因的上游(图 8-9)。(D)当把改造过的包含一个调控区域的 DNA 重新引入到果蝇胚胎的基因组中，这个胚胎表达 β-半乳糖苷酶的位置精确地位于在 7 个 *Eve* 条带中的第二个的位置上。酶活性是通过加入 X-gal 来检测的。X-gal 是一种改造过的糖，被 β-半乳糖苷酶切割后产生一种不可溶的蓝色产物。(图(B)和图(D)由 Stephen Small 和 Michael Levine 惠赠)

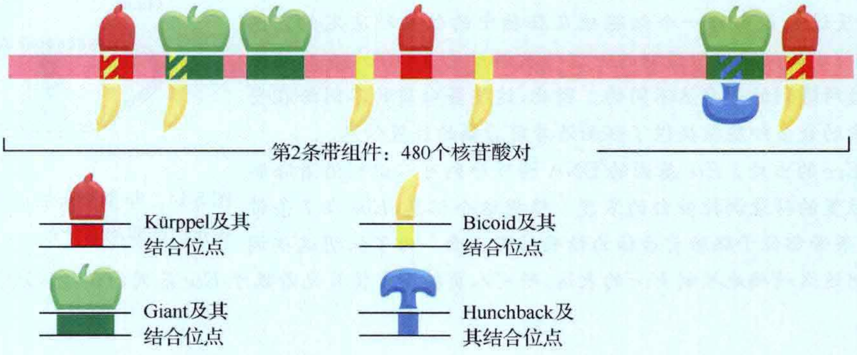


图 8-16　*Eve* 的 2 号条带调节组件包含 4 个不同的转录调控蛋白结合位点。所有四个调控蛋白都对正确表达 *Eve* 在 2 号条带上负有责任。两种活化物 Bicoid 和 Hunchback 有缺陷的果蝇将无法有效地形成第 2 号条带；两种阻抑物 Giant 或者 Kürppel 中任何一个有缺陷的果蝇其 2 号条带将会扩增，异常地覆盖胚胎上广泛的区域。如图所示，有些时候转录调控蛋白的结合位点是重叠的，蛋白质将竞争着结合 DNA。例如，Bicoid 和 Kürppel 在最右端位点上的结合被认为是互相排斥的。

每一个组件包含了短小的 DNA 序列的一个独特的排列从而被特别的转录调控蛋白所识别。这样，一个基因就可以响应一个庞大数量的组合的信号输入。Eve 自身作为一个转录调控蛋白，和许多其他的调控蛋白联合起来，控制着随后的果蝇发育的关键事件。这就可以解释：一个复杂的有机体是如何通过重复应用一些简单的基本原理弹奏出生命的乐章。

8.3.2　不同基因的表达可被单个蛋白质协调

细菌和真核生物不仅需要能够单个地打开或关闭基因，也要求能够协调不同基因的表达。例如，当真核细胞收到要分裂的信号时，尚未表达的许多基因一起被打开，启动了最终导致细胞分裂的事件(见第 18 章)。细菌协调一系列不同基因表达的途径之一是让它们在一个操纵子中成簇地处在一个启动子的控制下(图 8-6)。但在真核生物中，每个基因都是单独调控的。所以，真核生物是怎样协调基因表达的呢？特别是我们假设真核细胞是用一组转录调控蛋白控制每一个基因的，那么细胞是怎样快速而果断地打开或关闭一组基因的呢？答案是，尽管基因表达的控制是组合的，但在打开或关闭任何特定基因时单个转录调控蛋白的效应仍是决定性的，因

为它能完成整套激活或阻抑基因所需的组合中的最后一步。这就像拨组合锁的最后一位数字，如果其他几位数字事前已拨好，这时锁就会应声弹开。正如同一个数字能完成不同锁的组合，同一个蛋白质也能完成不同基因的组合。如果许多不同的基因含有的 DNA 序列能被同一个转录调控蛋白所识别，这些基因就可以作为一个单元被同时开启或是关闭。

人体中这类调控的一个例子是糖皮质激素受体蛋白。这是一个转录调控蛋白，但是为了和 DNA 上的调控位点结合，它必须先和一个糖皮质激素类固醇激素（如皮质醇，见表 16-1）形成复合物。肝细胞对糖皮质激素作出反应，提高了多个基因的表达，其中包括编码酪氨酸氨基转移酶的基因，正如前面所讨论的。这些基因都是通过激素-糖皮质激素受体复合物与各自基因的调控位点结合而被调控的。当身体恢复，这个激素不再存在，所有这些基因的表达都降至正常水平。通过这个途径，一个转录调控蛋白可以控制许多个基因的表达（图 8-17）。

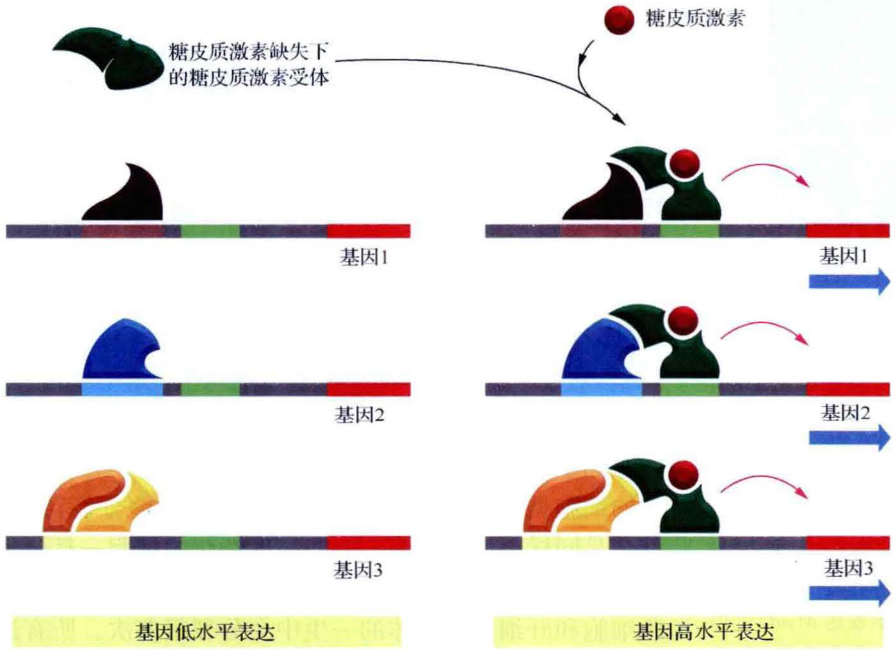


图 8-17　**单个转录调控蛋白能协调多个不同基因的表达。**糖皮质激素受体的作用如图所示。左边显示了一系列基因，每一个都有不同的基因激活蛋白与其调控区域结合。然而这些结合的蛋白质本身并不能有效地激活转录。右边显示了加入另一个能同每一个基因的调控区域结合的转录调控蛋白——糖皮质激素受体（和糖皮质激素形成复合物）——的效果。糖皮质激素受体完成了有效转录起始所需转录调控蛋白的组合，现在一组基因被打开了。

8.3.3　组合控制可产生不同细胞类型

只用一个蛋白质打开或关闭许多个基因的本领不仅在日常的细胞功能调控中有用，而且也是胚胎发育中真核细胞分化成特殊细胞类型的手段之一。

单个转录调控蛋白在分化中的效应的突出例子来自肌细胞发育的研究。哺乳动物骨骼肌细胞是高度特化的细胞类型。骨骼肌细胞是特别巨大的细胞，由许多肌细胞前体（称为成肌细胞）融合而成。成熟肌细胞和其他细胞最显著的区别是有大量特征性蛋白质的合成，如组成收缩装置的肌动蛋白和肌球蛋白（见第 17 章），还有在细胞膜上使肌细胞对神经刺激敏感的受体蛋白和离子通道蛋白。当成肌细胞开始融合时，编码肌肉特异蛋白的基因全部协调地打开。离体培养的肌细胞分化研究已发现，关键的转录调控蛋白只在可能成为肌细胞的细胞中产生，它

图 8-18 成纤维细胞可以通过单个转录调控蛋白转变成肌肉细胞。 如免疫荧光显微照片所示，通过人为诱导 *MyoD* 基因的表达，来自鸡胚皮肤的成纤维细胞被转变成了肌细胞。表达 *MyoD* 基因的成纤维细胞融合成为伸长的多核类肌细胞，后者用检测肌肉特异蛋白的抗体染成了绿色。不表达 *MyoD* 基因的成纤维细胞只在背景上隐约可见。（蒙 Stephen Tapscott 和 Harold Weintraub 惠许）

协调基因的表达，因此对肌细胞分化是关键的。这些转录调控蛋白通过结合在所有这些编码肌肉特异蛋白的基因调控区中的位点上来调控这些基因的转录。

这些关键的转录调控蛋白能够通过激活只有处于分化状态的肌细胞才有的基因表达，把非肌细胞转化成肌细胞。如 MyoD 就是这类转录调控蛋白中的一种，人工迫使它在来自皮肤结缔组织的成纤维细胞中表达时，成纤维细胞就开始像成肌细胞那样，融合形成类肌细胞。在成纤维细胞中表达 *MyoD* 基因的戏剧性效应如图 8-18 所示。成纤维细胞像肌细胞那样由同一大类的胚胎细胞衍生而来，它似乎已经积聚了组合控制肌细胞特异基因所需的所有其他转录调控蛋白，MyoD 的加入完成了这个特有组合从而指导细胞变成肌肉。其他一些细胞类型在加入 MyoD 后无法变成肌细胞，可能是因为这些细胞在发育进程中没有积聚其他必要的转录调控蛋白。

不同的转录调控蛋白的积聚如何导致不同类型细胞的产生，在图 8-19 中作了说明。这个图也说明，多亏了组合控制和共享 DNA 调控序列的各种可能性，使得有限的转录调控蛋白能控制更多数量的基因的表达。

单个转录调控蛋白使一种细胞类型（成纤维细胞）转变成另一种（肌细胞）强调了本章讨论的最重要的原理之一：各种细胞类型间大小、形状和功能的巨大差异是由基因表达的差异所产生的。

8.3.4 稳定的基因表达型式可传递给子细胞

正如本章前面所讨论的，多细胞生物中的一个细胞一旦分化成特殊的细胞类型，它通常会保持分化，如果能够分裂，它的所有子细胞都会是同样类型的细胞。一些高度特化的细胞一旦分化后再也不分裂，如骨骼肌和神经元。但是许多其他分化细胞如成纤维细胞、平滑肌细胞和肝细胞在个体的一生中会分裂很多次。所有这些细胞在分裂时只产生和本身一样的细胞：平滑肌细胞不会产生肝细胞，肝细胞也不会产生成纤维细胞。

细胞身份的保持就意味着产生分化细胞的基因表达中的变化必定已被记住，并通过后来的细胞分裂传递给子细胞。如图 8-19 所示的细胞，每个转录调控蛋白的产生一旦开始就一定在每次细胞分裂的子细胞中连续下去。这是怎么完成的呢？

细胞有几种途径确保子细胞记住它们自己应是什么类型的细胞。最简单的途径之一是通过**正反馈环路**，一个关键的转录调控蛋白除了激活细胞类型专一基因的转录外，也激活了自身基因的转录（图 8-20）。例如，前面讨论过的 MyoD 转录调控蛋白就是以这种正反馈环路来工作的。另外一种维持细胞类型的途径是通过将一种浓缩染色质结构正确可靠地从母细胞传到子细胞来实现的。图 5-30 就是这样的一个例子，经过许多细胞世代后仍是同一条 X 染色体失活。

第三种方式是通过 **DNA 甲基化**使得细胞将基因表达的信息传递给自己的后代的。在脊椎动物细胞中，DNA 甲基化专门发生在胞嘧啶上（图 8-21）。这种共价修饰胞嘧啶的结果通常是通过吸引阻止基因表达的蛋白从而关闭基因表达。DNA 甲基化的模式传递给子代细胞是通过

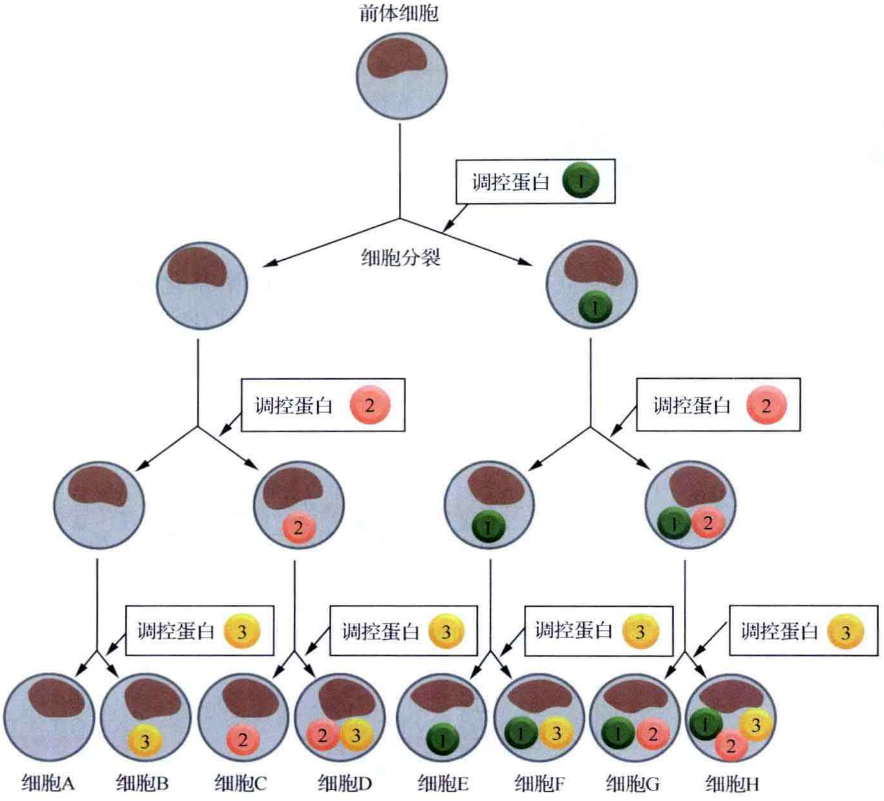


图 8-19　在发育过程中一些转录调控蛋白的组合可以产生不同的细胞类型。在这个简图中合成一个新的调控蛋白(以带数字的圆圈表示)的“决定”是在每次细胞分裂后作出的。这个简单规则的重复,使得只用 3 种不同的转录调控蛋白就产生了 8 种细胞类型(A 到 H)。其中假设的每一种细胞类型表达不同的基因,这是由细胞自身所有的转录调控蛋白的组合所决定的。

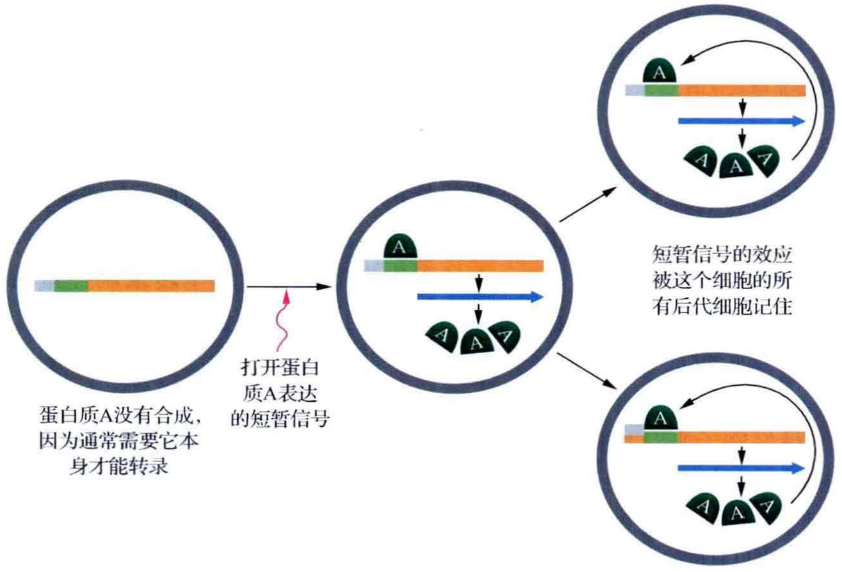


图 8-20　一个正反馈环路可以产生细胞记忆。蛋白质 A 是一个可以激活自身转录的转录调控蛋白。因此,所有原始细胞的后代都将“记住”:它们的祖先细胞曾经经受过一个短暂的信号,正是该信号起始了蛋白质 A 的产生。

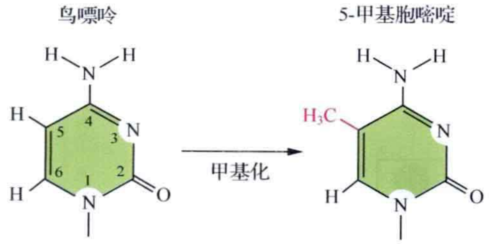


图 8-21 在 DNA 双螺旋上通过甲基化一个胞嘧啶生成 5-甲基胞嘧啶。在脊椎动物中该事件仅发生在紧邻鸟嘌呤(G)的胞嘧啶(C)核苷上。

一种酶的作用,该酶在 DNA 复制后立即将母代 DNA 序列上的甲基化模式拷贝到子代序列上(图 8-22)。因为正反馈环路、浓缩染色质的特定形式和 DNA 甲基化这三种机制在自母代将信息传递给子代的时候都没有改变 DNA 核酸的实际序列,所以这些机制被认为是表观遗传(参见 5.3 节)的形式。

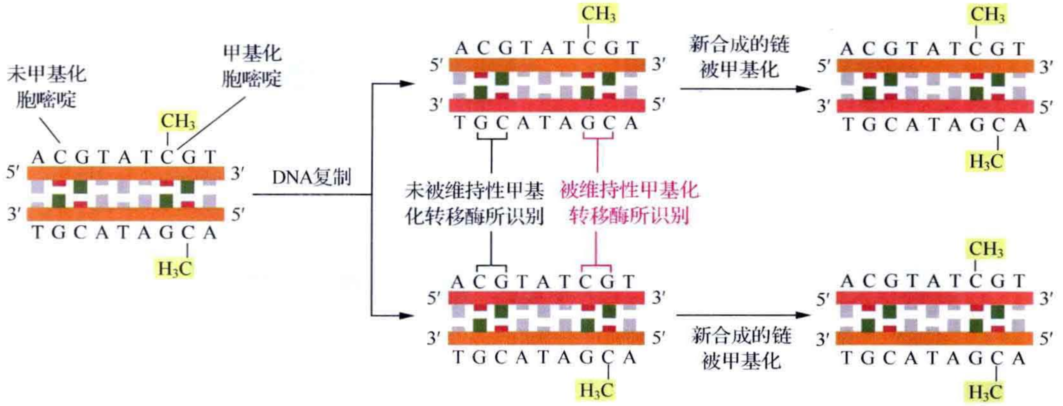


图 8-22 DNA 甲基化模式可以被忠实地继承下去。一种称为维持性甲基化转移酶确保了一旦一种 DNA 甲基化的模式被建立了起来,模式将被遗传到子代 DNA。在 DNA 复制后的瞬间,两个子代双螺旋中将有一条链遗传着母代螺旋而带有着甲基化的 DNA,另外一条链也就是新合成的那条链没有甲基化。于是维持性甲基化转移酶在这些杂合螺旋中相互作用,仅将特定的 CG 序列甲基化,即那些和该序列碱基互补的 CG 序列上面已经被甲基化的。在脊椎动物 DNA 中,绝大部分 CG 序列中的胞嘧啶是甲基化的。

8.3.5 单个转录调控蛋白能触发一个完整器官的生成

我们已经看到,尽管真核基因的组合控制是很常见的,但是单独一个转录调控蛋白也能在打开或关闭一整套基因时起决定性的作用,并且把一种细胞类型转变成另一类型。这个原理的一个引人瞩目的延伸来自对果蝇、小鼠和人的眼发育的研究。单个转录调控蛋白(在果蝇中是 Ey,在脊椎动物中是 Pax-6)对眼发育是关键的。在合适的细胞类型中表达时,Ey 触发生成的不止是一种细胞类型,而且是整个器官(眼)。这个器官由在三维空间中组织得很好的不同类型的细胞所组成。

Ey 作用的最好例子来自果蝇实验。在胚胎发育早期,让 *Ey* 基因人为地在正常情况下将会长成腿的细胞中表达。这种不正常的基因表达导致了眼在腿的中部发育(图 8-23)。果蝇的眼由几千个细胞组成,Ey 蛋白如何协调眼中每个细胞的特化是发育生物学界一个活跃的研究热点。在这里,我们只需简单的注意到 Ey 通过与多个其他基因的调控区域的 DNA 序列结合直接控制其表达。被 Ey 控制的一些基因本身可能就是转录调控蛋白,反过来又控制其他基因的表达。此外,这些调控蛋白中的一部分又可以反过来作用在 *Ey* 本身,形成了一个正反馈环路确保了 Ey 蛋白的持续表达。所以,仅仅一个调控蛋白的作用就能打开调控蛋白的级联反

应，后者的共同作用导致多种类型的细胞形成一个有组织的集体。现在我们可以开始想象，通过这个原理的重复应用，一个复杂的生物体就逐渐地建立起来了。

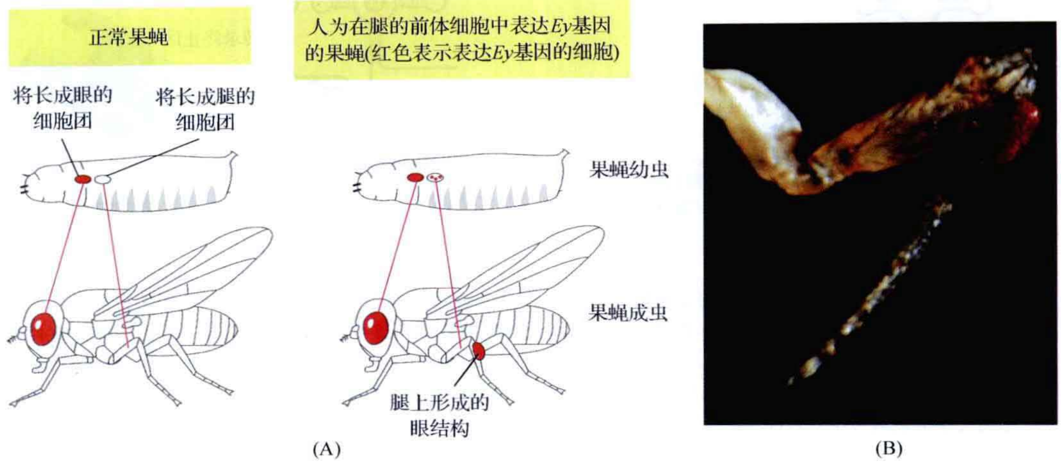


图 8-23　果蝇 *Ey* 基因在腿的前体细胞中表达，在腿上触发了眼的发育。(A)简图显示了果蝇幼虫含有正常表达的 *Ey* 基因(*左边*)或人为地在腿的前体细胞中表达 *Ey* 基因(*右边*)的结果。(B)含有错位眼的异常腿照片。(图 B 蒙 Walter Gehring 惠许)

8.4　转录后调控

我们已经看到转录调控蛋白通过开启或是关闭转录的起始来控制基因的表达。在所有生物体中，绝大多数的基因都是被这种方式调控着的。还有另外一些调控的形式，可以在从 DNA 到蛋白质的过程中起作用，使得细胞有一个进一步的机会来管理基因产物的产量。这种调控是发生在 RNA 聚合酶结合到基因的启动子上并开始合成 RNA 以后的，被称为**转录后调控**，它对于调控许多基因至关重要。

在第 7 章中，我们已经描述了一种转录后调控：选择性剪接(alternative splicing)，使一种蛋白可以在不同的组织中产生不同的形式(图 7-21)。这里我们将讨论更多的例子，使得细胞可以在转录起始后仍然能够操纵基因的表达。

8.4.1　核开关给基因调控提供了一个经济的手段

目前为止，我们讨论的所有关于控制基因表达的原理中都涉及了转录调控蛋白的参与。然而最近科学家发现了一群 mRNA 可以调控自身的转录和翻译水平。这些自我调控的 mRNA 带有**核开关(riboswitch)**：短序列的 RNA，可以在结合诸如代谢物的小分子的时候改变自身的构象。已经发现了许多核开关，每一个都识别一个特殊的小分子。与这些小分子的结合而引起的构象上的改变可以调节基因的表达(图 8-24)。这种基因调控的模式在细菌中特别常见。核开关在细菌细胞中感应关键的小分子代谢物，并且相应地调节基因的表达。

核开关可能是基因控制设备中最经济的一个例子，因为它完全绕过了对于调节蛋白的需求。短序列 RNA 可以形成高效的基因调控装置，这个事实提供了一个更深层次的证据，证明了远在现代细胞产生之前，一个由 RNA 统治的世界可以达到相当高的精致程度(参见第 7.3 节)。

8.4.2　mRNA 的非翻译区域可以控制自身的翻译

一旦一个 mRNA 被合成，一个最常见的调控该蛋白质产量的方式就是控制翻译的起始。尽管翻译起始的细节在真核细胞和细菌间略有不同，但是在这个环节它们都是运用了同样一套

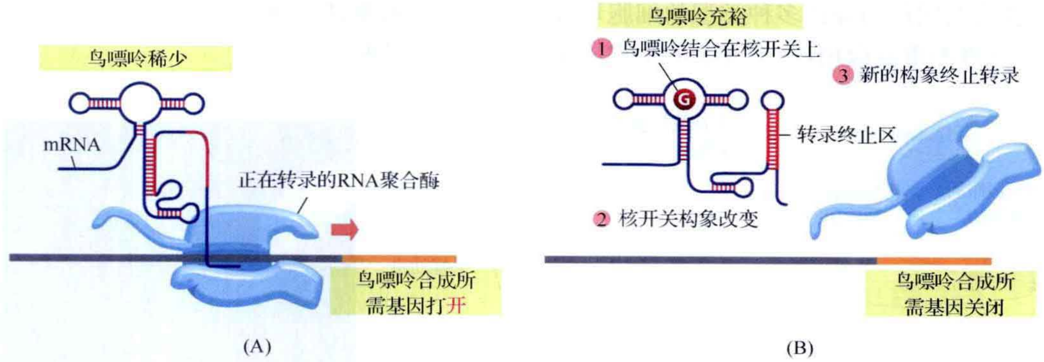


图 8-24 在细菌中核开关控制着嘌呤生物合成基因。(A)当鸟嘌呤稀少的时候,核开关采取一种结构使得早已开启转录的 RNA 聚合酶延伸,从而继续转录嘌呤生物合成基因。因此鸟嘌呤合成所需要的酶就表达了。(B)当鸟嘌呤充裕的时候,鸟嘌呤结合在核开关上,导致后者经历了一个构象改变。新构象包括了一个双链结构(红色),迫使聚合酶在接触到嘌呤生物合成基因之前终止转录。当没有鸟嘌呤的时候,这种双链结构的形成将被阻止。这是因为 RNA 链中的一条会和核开关上另外不同的区域配对(A)。在本例中,核开关阻断了一条 mRNA 的完成。其他的核开合成后用于控制 mRNA 的翻译。(引自 M. Mandal and R. R. Breaker, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 5:451-63, 2004)

基本策略来控制基因表达的。

细菌 mRNA 包含了一段短的核糖体结合序列,定位在翻译起始 AUG 密码子上游几个核苷之前。这个识别序列可以和小的核糖亚基中间的 RNA 形成碱基互补,从而将起始 AUG 密码子定位在核糖体中正确的位置上。正因为这个相互作用对于高效的翻译起始必不可少,所以它同时也提供了一个控制翻译的完美靶点。通过阻断(或是暴露)核糖体识别序列,细菌可以抑制(或是促进)mRNA 的翻译(图 8-25)。

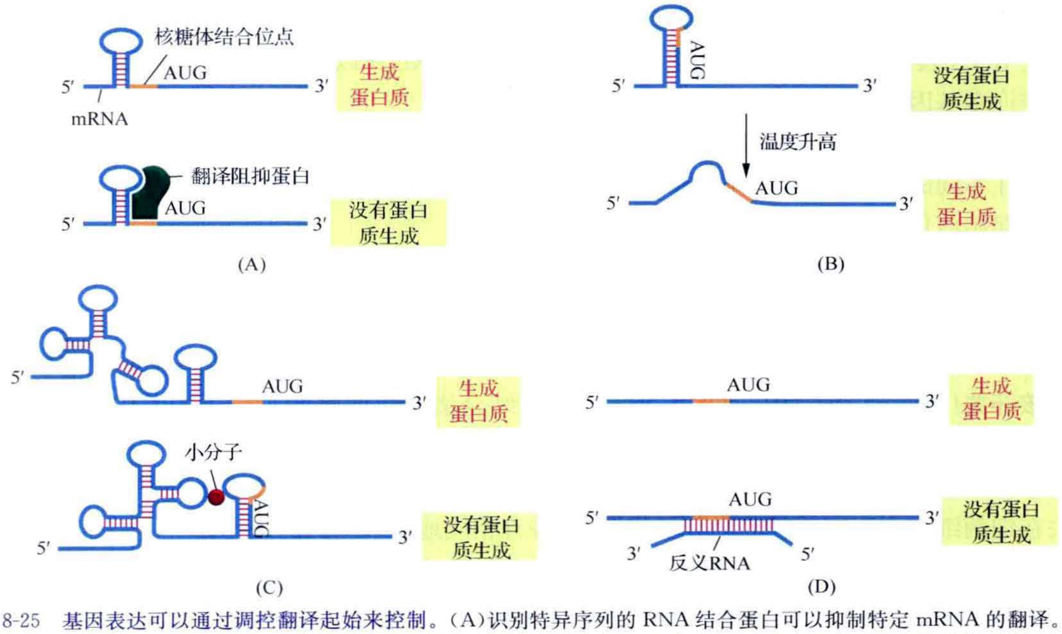


图 8-25 基因表达可以通过调控翻译起始来控制。(A)识别特异序列的 RNA 结合蛋白可以抑制特定 mRNA 的翻译。这是通过阻止核糖体结合到细菌蛋白编码基因开始部位的核糖体识别序列(橘黄色)上面来实现的。一些核糖体蛋白运用这种机制来抑制自己 mRNA 的翻译。(B)来自病原体 *Listeria monocytogenes* 中的一种 mRNA 包含有一个"热感应"RNA 序列来控制一系列病毒性基因的翻译。当细菌因进入人类宿主中而造成温度提升时,热感应序列变性,病毒性基因随之表达。(C)在核开关上结合小分子会导致 RNA 结构重排,造成核糖体识别序列被隔绝,阻断翻译起始。(D)由其他基因产生的一段互补的"反向"RNA 可以与特异的 mRNA 碱基配对从而阻断了后者的翻译。尽管这些翻译层面上的调控例子都是来自于细菌,但是许多相似的原理在真核生物中也起作用。

真核 mRNA 具有一个 5′帽端用于帮助引导核糖体接触到第一个 AUG，这个密码子就是翻译开始的地方（图 7-35）。在真核细胞中，阻抑物可以抑制翻译的起始。它们通过结合在 mRNA 上 5′非翻译区域的特殊 RNA 序列上，使核糖体无法结合在第一个 AUG 上。当情况改变，细胞可以失活阻抑物，从而增强 mRNA 的翻译。

8.4.3 调控性小 RNA 可以控制成百上千动植物的基因的表达

正如我们在第 7 章中见到的，RNA 在细胞中行使很多关键的任务。除了作为遗传信息的递质外，它们还起到了关键的结构作用和催化作用，尤其是在蛋白质合成的时候（参见 7.2 节）。然而，最近一系列惊人的发现揭示了非编码 RNA（不指导蛋白质合成的 RNA）比先前想象的要更加普遍存在，而且在调控基因表达方面起着不曾预料到的广泛作用。

一类特别重要的在动植物种发现的非编码 RNA，称作**微小 RNA（miRNA）**。如人类生成的 400 多个不同的 miRNA，这些 miRNA 调控了至少 1/3 的编码蛋白基因。这些短小的调控 RNA 是通过和关键的 mRNA 碱基配对来控制基因的表达的，同时还控制了它们的稳定性及它们的翻译。

类似于 tRNA 和 rRNA 等非编码 RNA，miRNA 转译本的前体经过了一个特别的加工最后得到了成熟的 miRNA。随后后者再和特定的蛋白质形成了一个 RNA 诱导的沉默复合体（RNA-induced silencing complex，RISC）。RISC 在细胞质中巡逻，寻找着与其携带的 miRNA 互补的 mRNA（图 8-26）。一旦一个靶 mRNA 与 miRNA 形成碱基配对，该 mRNA 就会瞬间被

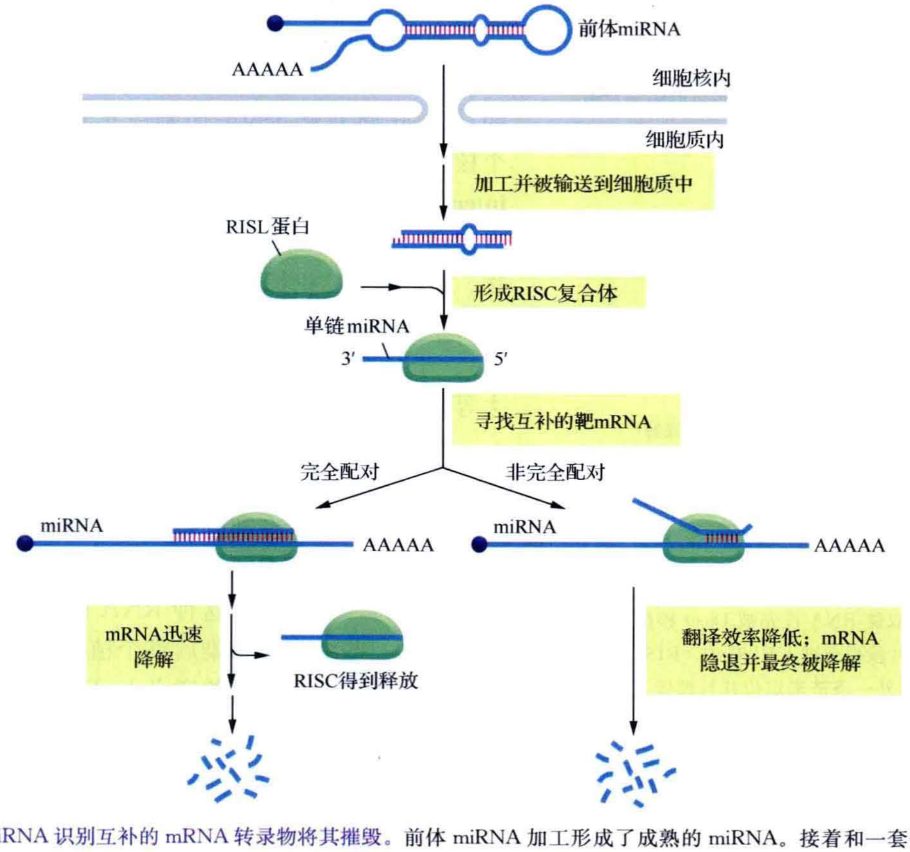


图 8-26 miRNA 识别互补的 mRNA 转录物将其摧毁。前体 miRNA 加工形成了成熟的 miRNA。接着和一套蛋白质装配组成 RISC 复合体。然后 miRNA 将 RISC 带领到与其核苷酸序列配对的 mRNA 那里去。根据配对的程度不同，靶 mRNA 或者就在 RISC 中被核酸酶迅速降解，或者被转移到细胞质中被其他的细胞核酸酶所摧毁。

存在于 RISC 中的核酸酶降解掉，或者先被阻止翻译然后被送到细胞质中的一处地方，在那里被其他的核酸酶降解掉。一旦 RISC 解决好了一个 mRNA 分子后，RISC 便得到了解放，就可以着手再去寻找新的 mRNA 分子了。于是，作为一个 RISC 中的一部分单个 miRNA 能够一个接一个的清理掉 mRNA，由此高效地阻断该 mRNA 编码的蛋白质的产量。

miRNA 具有两个特征使得它们成为特别有用的基因表达调控者。第一，单独一个 miRNA 可以调控一整套不同的 mRNA，只要这些 mRNA 携带有一段相同的序列；这些序列常常位于它们的 5′和 3′非翻译区域。在人类中，一些单个的 miRNA 就以这种方式控制了上千种不同的 mRNA。第二，相对于用来编码转录调控蛋白的基因，编码一个 miRNA 的基因在基因组中只需要占用较少的空间。实际上，它们如此微小也是它们直到最近才被人们所发现的原因之一。尽管我们才刚刚开始去理解 miRNA 的完全影响力，但是有一点是明确的，在细胞中调节基因表达的设备中 miRNA 代表着一个关键的部分。

8.4.4 RNA 干扰摧毁外源双链 RNA

一些加工包装 miRNA 的蛋白质还作用于细胞防御机制：它们指挥了对于“外源”RNA 分子的摧毁，特别是那些双链的 RNA。许多病毒及转座子在它们的生命周期中有时会产生双链 RNA。这种靶 RNA 的降解机制称为 **RNA 干扰（RNA interference，RNAi）**，让这些具有潜在危险的入侵者处于被控制的地位。

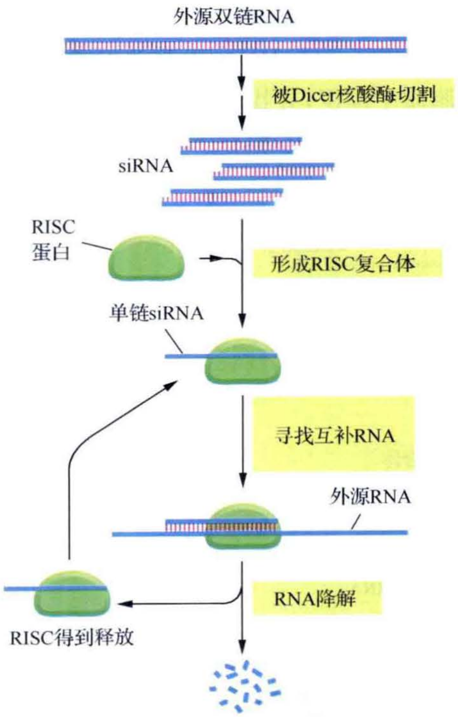


图 8-27 siRNA 摧毁外源 RNA。来自病毒或是转座遗传因子的双链 RNA 首先被 Dicer 核酸酶切割。所产生的双链片段整合进入 RISC 中。RISC 弃掉双链中的一条，用另外一条链来定位并且摧毁互补的 RNA。这就是 RNA 干扰（RNAi）的基本原理。

细胞中外源双链 RNA 激发 RNA 干扰是通过吸引一种包含核酸酶 Dicer 的蛋白质复合体开始的。Dicer 将双链 RNA 切割成小片段（大概有 23 个核苷酸对的长度），后者被称为**小干扰 RNA（small interfering RNA，siRNA）**。这些短的双链 RNA 随后被整合进 RISC，就是那个可携带 miRNA 的复合物。然后 RISC 扔掉双链 siRNA 中的一条，利用剩下的单链 RNA 去定位互补的外源 RNA 分子（图 8-27）。于是靶 RNA 分子被迅速降解掉，留下 RISC 去寻找更多的同类外源 RNA 分子。

在很广泛的生物体中都能发现 RNA 干扰，包括单细胞真菌、植物和蠕虫，这就意味着 RNA 干扰进化上的远古性。在部分生物包括植物中，RNA 干扰的活性可以通过 RNA 在细胞间的移动从一个组织传播到另一个组织。这种 RNA 的传递可以让植物中仅仅一些细胞被感染后整个植物就都获得对某种病毒的抗性。在广泛的意义上，RNA 干扰响应和人类免疫系统的某些方面类似。在上述两个例子中，一个受感染的生物引出定制设计为失活入侵者的“攻击”分子（不是 siRNA 就是抗体），从而保护宿主。

8.4.5 科学家可以利用 RNA 干扰关闭基因

对于 miRNA、siRNA 和 RNAi 机制的发现，人们给予了热情的欢迎。从实际应用来看，

RNAi 已经成为了一个强有力的工具，允许实验人员几乎可以失活培养细胞或是一整个植物或是动物的任何基因。我们将在第 10 章讨论这个技术是如何帮助人们知道每个基因的功能的。

此外，RNAi 已经展现了作为治疗人类疾病的有效途径的强大潜力。由于众多人类的不适都是由于基因的不正确表达造成的，因此通过引入互补 siRNA 分子来关闭这些基因这一可能性将有着医学上广阔的前景。

最后，RNA 在控制基因表达上起着如此关键作用这一发现，扩增了我们对于细胞可自由使用的调控网络类型的认识。当今生物学的一个最大的挑战就是破解这些网络是如何相互作用从而确定了一个复杂生物的发育，也包括我们自己。

基本概念

- 典型的真核细胞只表达所有基因中的一部分，多细胞生物独特的细胞类型的产生是因为细胞分化时不同类型的细胞表达了不同组合的基因。
- 尽管表达基因时所涉的各个步骤原则上都是可以调控的，但对大多数基因来说，转录起始是最为重要的控制点。
- 单个基因的转录是通过转录调控蛋白打开或关闭的。这类蛋白质是通过和一小段 DNA 调节序列相结合而起作用的。
- 尽管每个转录调控蛋白有独特的特征，它们的大部分采用为数不多的几个蛋白质结构模体之一与 DNA 结合。折叠在模体内部的氨基酸的精确序列决定所识别的特定 DNA 序列。
- 细菌中，转录调控蛋白通常在 RNA 聚合酶结合部位附近同 DNA 调节序列结合，激活或阻抑基因的转录。真核细胞中，这些 DNA 调节序列通常距启动子有几千个核苷酸对之远。
- 真核转录调控蛋白以两种基本方式作用：①它们可以直接影响在启动子上的 RNA 聚合酶与通用转录因子的装配进程；②它们可以局部改变启动子区域的染色质结构。
- 真核生物中，基因的表达通常是通过转录调控蛋白的组合来控制的。
- 多细胞植物和动物中，不同类型细胞产生不同的转录调控蛋白，确保只有适合那种细胞类型的基因表达。
- 多细胞生物中的细胞具有一定机制以确保它们的后代“记住”自己应该是什么类型的细胞。
- 单个的转录调控蛋白如果在合适的前体细胞中表达，能触发生成一种特殊的细胞类型甚至整个器官。
- 在转录发生后，细胞依旧可以控制基因的表达。这类机制通常是依赖可以影响它自己的转录或是翻译的 RNA 分子实现的。
- 微小 RNA(miRNA)通过和特定 mRNA 的碱基配对从而调控它的稳定性和翻译来控制基因的表达。
- 细胞有一套防御机制来摧毁大部分由病毒产生的“外源”双链 RNA。科学家将这个机制即 RNA 干扰技术用于失活目的基因。方法是将针对目的基因 mRNA 上的双链 RNA 注射到细胞中。

关键词

DNA 甲基化	调节 DNA 序列	基因表达	转录调控蛋白
RNA 干扰(RNAi)	分化	微小 RNA(miRNA)	转录后调控
报告基因	核开关	小干扰 RNA(siRNA)	阻抑物
表观遗传	活化物	正反馈环路	组合控制

问题

问题 8-1 细菌能从周围环境中摄取色氨酸(Trp)，或者在外源色氨酸不足时自身能从其他小分子合成色氨酸。Trp 阻抑物是一个细菌转录调控蛋白，能阻抑编码色氨酸合成所需酶的基因的转录(图 8-7)。

A. 如果细胞表达了色氨酸阻抑物的下列三种突变型，这对色氨酸操纵子的调控将产生什么影响？(1)不能和 DNA 结合，(2)不能和色氨酸结合，(3)即使没有色氨酸它也能和 DNA 结合。

B. 如果此外细胞从第二个正常基因处产生了正常的色氨酸阻抑物，则上述突变型(1)、(2)和(3)将发生什么情况？

问题 8-2 请解释 DNA 结合蛋白如何在不破坏碱基间氢键的情况下和双链 DNA 分子序列特异地接触，并指出通过这些接触，蛋白质怎样区分 T-A 对和 C-G 对。以类似于图 8-4 的方式回答并指出会形成哪种非共价键(氢键、离子键或疏水作用，见图版 2-7)。无须特别指出蛋白质上的任何氨基酸，DNA 上的所有碱基对结构在图 5-6 中已给出。

问题 8-3 一些转录调控蛋白同 DNA 结合并使双螺旋弯曲成锐角。这种“弯曲蛋白质”能影响转录起始但不与 RNA 聚合酶、任何通用转录因子或其他转录调控蛋白相接触。你能设想一个合理的解释来说明这些蛋白质是怎样调节转录的？请画图说明。

问题 8-4 细菌病毒(细菌病毒称为噬菌体)可以两种途径复制。在原噬菌体状态，病毒 DNA 插入细菌基因组，随着细菌基因组复制，并随细菌基因组一代代传递下去。在裂解状态下，病毒 DNA 从细菌基因组释放出来，在细胞内复制多次。病毒 DNA 然后产生病毒包膜蛋白，和复制后的病毒 DNA 一起形成许多新的病毒颗粒，从细菌细胞中释放出来。这两种生长状态是由病毒编码的 cI 和 Cro 两个转录调控蛋白控制的。在原噬菌体状态，cI 表达；在裂解状态，Cro 表达。除了调控其他基因表达外，cI 是 *Cro* 基因转录的阻抑物，*Cro* 是 *cI* 基因的阻抑物(图 Q8-4)。当含原噬菌体状态的细菌用紫外线轻度照射后，cI 蛋白被降解。

A. 接下去会发生什么？

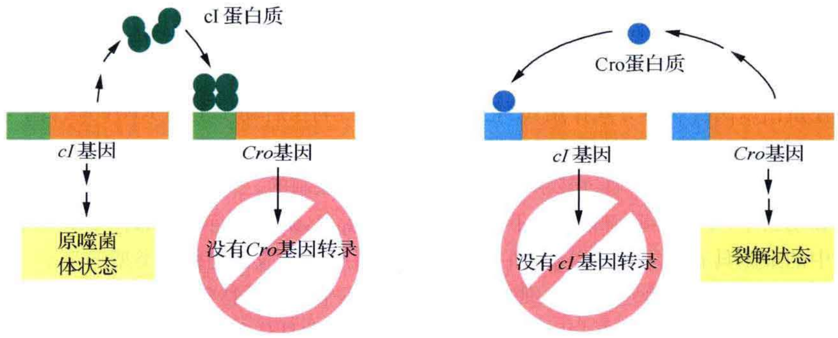


图 Q8-4

B. 当紫外线停止照射时，A 中的变化能复原吗？

C. 为什么会进化成这种针对紫外线响应的机制？

问题 8-5 (正确/错误)当一个完全分化的胡萝卜细胞的细胞核注射到一个移除核的青蛙卵中，注射的供体细胞核具有将受体卵细胞编程产生一个正常胡萝卜的能力。解释你的回答。

问题 8-6 下列哪些说法是正确的？请解释。

A. 在细菌中但不是在真核生物中，大部分的 mRNA 编码不止一个蛋白质。

B. 大多数的 DNA 结合蛋白和双链的大沟结合。

C. 基因表达的 4 个主要控制点中(转录、RNA 加工、翻译和蛋白质活性的控制)，转录起始是最为常见的。

D. 含有锌指域的 DNA 结合蛋白中的锌原子，通过在碱基上形成的序列特异性相互作用而对结合特异性产生影响。

问题 8-7 你在 Quasimodo 教授实验室的任务是决定 *straightspine* 基因的增强子在离启动子多远的地方仍能激活转录。你系统地改变两个位点间不同的核苷酸对数目，然后测定 Straightspine mRNA 的产生来决定转录的量。乍一看你的数据很矛盾(图 Q8-7)。你预期这个实验会有什么样的结果？你能保全你的声誉并向 Quasimodo 教授解释这些结果吗？

问题 8-8 许多转录调控蛋白形成相同亚基的二聚体。为什么这样的结构有优势？请描述经常用来同

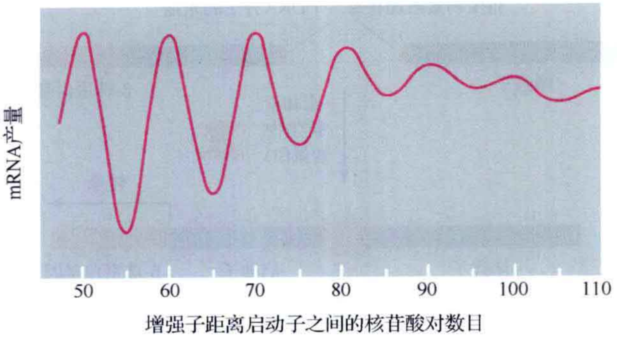


图 Q8-7

DNA 接触的三种结构模体，并阐明使它们适合于此目的的特征是什么。

问题 8-9 λ阻抑物以二聚体的形式结合在λ噬菌体基因组的关键位点，从而抑制病毒裂解基因。这对于维持原噬菌（整合）状态十分必要。阻抑物的每一个分子都包含了一个 N 端 DNA 结合域和一个 C 端二聚化结构域（图 Q8-9）。在诱导情况下（如用紫外线辐射），裂解生长的基因得到表达，产生了λ噬菌体的后代，细菌细胞被裂解掉了（见问题 8-4）。诱导是通过劈开在λ阻抑物的 DNA 结合域和二聚化结构域中间的区域而起始的，这就使得阻抑物从 DNA 上分离下来。缺少了结合着的阻抑物，RNA 聚合酶结合上去并起始裂解途径。假设 DNA 结合域的数量（浓度）在切割阻抑物后维持不变，那么为什么是切割导致了它和 DNA 的分离呢？

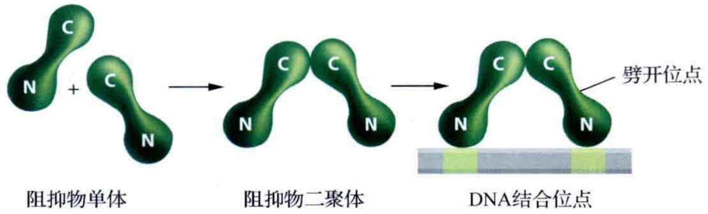


图 Q8-9

问题 8-10 精氨酸合成酶定位在大肠杆菌基因组上的好几个位点上面，它们都协同地由 *ArgR* 基因编码的转录调控蛋白所控制。ArgR 的活性受到精氨酸的调节。ArgR 在结合上了精氨酸后就改变了自身的构象，从而剧烈的改变了它自身和精氨酸合成酶基因启动子上的 DNA 序列的亲和性。假设 ArgR 是一个阻抑蛋白，那么在精氨酸充裕的时候，ArgR 和 DNA 序列结合的是更紧密了还是更松散了呢？如果 ArgR 的作用是活化物蛋白，那么它和精氨酸的结合是增强还是减小？它和 DNA 调节序列的亲和性呢？解释你的回答。

问题 8-11 当人们发现增强子在距离它们控制的启动子上千个核苷酸对以外的地方影响转录的时候，有两个主要的模型来解释这种远距离作用。在“DNA 环化”模型中，结合在增强子上的蛋白质和启动子之间的直接相互作用被认为刺激了转录起始。在“扫描”或是“入口位点”模型中，RNA 聚合酶（或是其他转录机制中的成分）被认为结合在增强子上面，然后沿着 DNA 滑动扫描直到到达启动子。这两种模型用下列材料来检验：DNA 片段上的一个增强子、另外一个 DNA 片段上的β-珠蛋白基因及该基因的启动子（图 Q8-11）。将这些片段混合在一起的时候β-珠蛋白基因不表达。然而，当两个 DNA 片段通过一个蛋白连接物连接在一起的时候，β-珠蛋白基因就表达了。

这个实验是否能够区分 DNA 环化模型和扫描模型呢？解释你的回答。

问题 8-12 一个生物体的所有分化细胞含有相同的基因（这个规则的少数几个例外之一是哺乳动物免疫系统的细胞，其特化细胞的形成是基于基因组的小范围重排），请描述一个能证实本题第一句话的实验，并解释其原因。

问题 8-13 图 8-19 显示了在发育过程中三种转录调控蛋白可能被用来产生 8 种不同的细胞类型的简图。用同样的规则，4 种不同的转录调控蛋白能产生几种细胞类型呢？如正文所描述，MyoD 是一个转录调控蛋白，

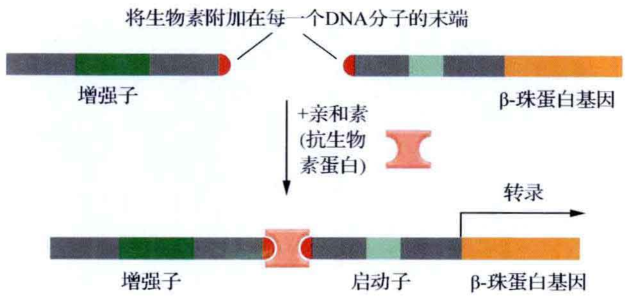


图 Q8-11

它本身就足以在成纤维细胞中诱导肌肉特异性基因表达。这个观察如何来符合图 8-19 中的图解呢?

问题 8-14 想象一下在图 Q8-14 中的所描绘的两种情况。在细胞Ⅰ中,一个短暂的信号激发了蛋白质 A 的合成,该蛋白质是基因活化物,可以开启许多基因包括它自身的表达。在细胞Ⅱ中,一个短暂的信号激发了蛋白质 R 的合成,该蛋白质是基因阻抑物,可以关闭许多基因包括自身的表达。这两种情况的哪一种可以使得原始细胞的后代"记住"它的前体细胞曾经经历过那个短暂的信号呢?解释你的理由。

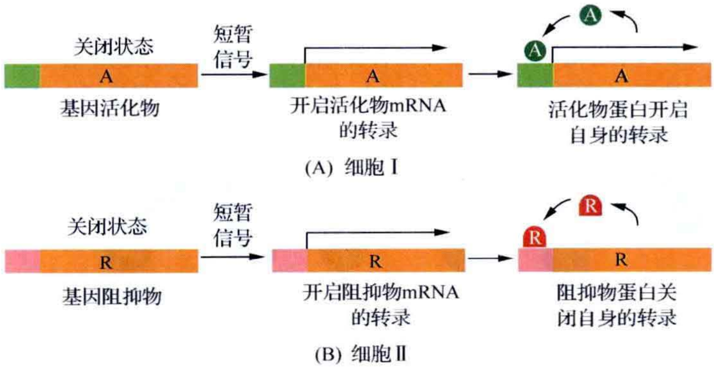
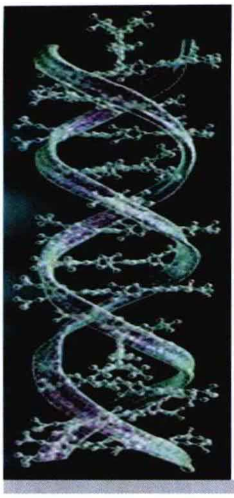


图 Q8-14

问题 8-15 讨论下面的论据:"如果每个基因的表达依赖于一套转录调控蛋白,那么这些转录调控蛋白的表达一定也依赖于其他转录调控蛋白,其他的转录调控蛋白的表达又依赖于另外一些转录调控蛋白,依次类推。因此细胞将需要无穷多的基因,其中的大部分将编码转录调控蛋白。"但这是不可能的。那么,细胞是怎样达到目的的呢?

(杨　科　译)



9

9.1 遗传性变异的产生
9.2 重建生命的"家族树"
9.3 人类基因组的研究

基因和基因组如何进化

没有两个人是绝对相像的。看看教室里或公共汽车上的人群：每个人在很多特征上与别人都具有差异——例如，头发、眼睛的颜色，肤色，身高，体格等（图 9-1）。显然，尽管我们属于同一物种，我们基因组所包含的信息却不尽相同。

图 9-1 一群英国学生，反映了遗传性变异这一概念。核苷酸序列上的微小差异导致个体间外观的差别。（蒙 Fiona Pragoff 惠许）

存在于两个生物体间核苷酸序列上的差异是生物进化的基本源泉。从地球上生命起始开始，细胞在选择压力的作用下经历了数十亿个世代，所有这些可遗传的变异最终成就了如今洋洋大观的生命形式，从细菌到鲸鱼。这一种群的多样性依赖于一个精确的平衡：DNA 复制的保守性使得后代得以继承父母的遗传特性，而基因复制过程中保留下来的错差又使其开始"尝试"新的特征，从而具备新的性能。正是由于这种平衡而产生了物种多样性。如果这种平衡有所改变，那么地球上的生命史也将发生变化。

在本章中，我们将讨论基因和基因组是如何随时间而发生变化的。我们将探讨遗传差异产生的分子机制，如何从现有基因组的信息来追溯那些曾经产生这类信息的历史进化足迹。在本章的最后，我们将对人类基因组进行探讨，从我们自己的 DNA 序列探究我们的本性和起源。

9.1 遗传性变异的产生

进化发生在生物体从祖先那里继承的 DNA 序列中：没有一种自然机制能够制造出很长一段全新的核苷酸序列。也就是说，没有一种基因或是基因组是全新的。进化更多的是担当工艺师的角色，而不是发明者：生命系统中令人震惊的形态和功能多样性全都来源于现有基础上的

变异。

经过数百万个世世代代以后，这些变异得以积累，从而产生巨大的变化。在进化过程中有一些基本的遗传变异是特别重要的（图 9-2）。

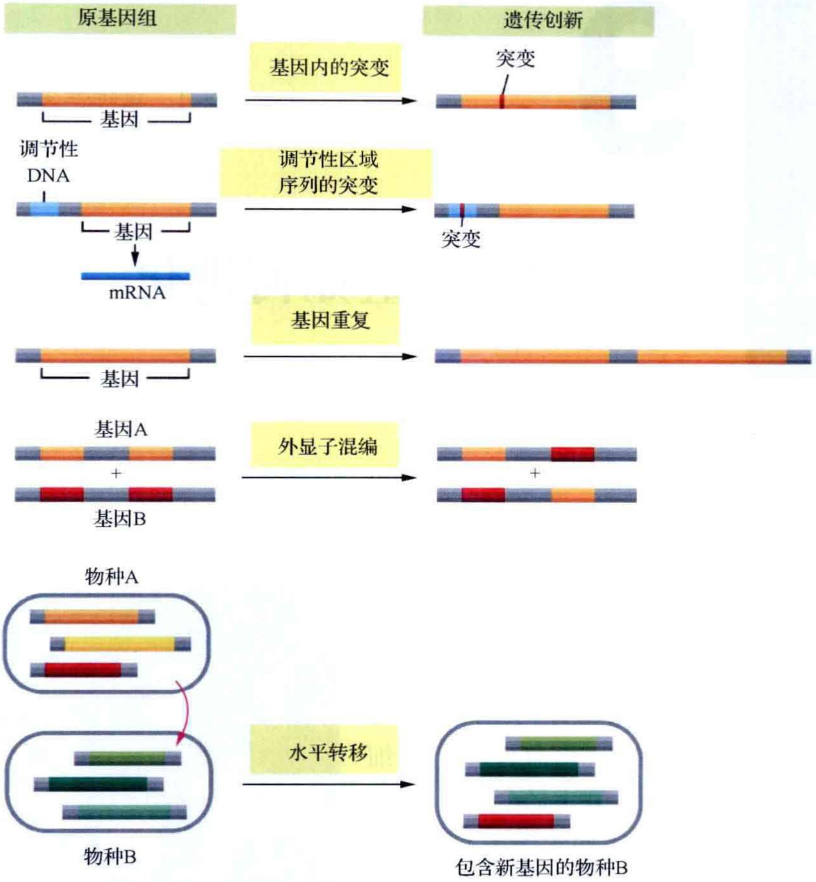


图 9-2　基因和基因组产生变异的方式。微小的突变、重复、缺失、重排乃至新的遗传物质的注入都能够为进化作出贡献。

• **基因内部的突变**：基因内部单个核苷酸突变，缺失或重复一个或多个核苷酸都能够对这个基因进行修改。这些突变能够改变蛋白质的活性或稳定性，改变其在细胞内的定位，或是影响该蛋白质和其他蛋白质的相互作用。

• **基因的调控 DNA 的突变**：基因的时空表达会因为调节其表达的 DNA 序列发生变异而受到影响（见第 8 章）。例如，人和鱼类很大一部分基因是相同的，但这些基因的表达由于受到不同的调节而导致这两个物种存在很大的不同。

• **基因复制**：一个已有的基因、一段大的 DNA 序列片段乃至整个基因组都可以被复制，这使得在单个细胞中能够新产生一套与亲本很相近的基因。当这个细胞及其子细胞发生细胞分裂的时候，原始基因和它的复制品会获得额外的变异，产生不同于彼此或不同于祖先基因的新的功能和表达方式。

• **外显子混编**：两个或多个已有基因能够发生断裂，并重新结合形成一个杂交基因，这个杂交基因的 DNA 序列来源于原先各自独立的基因。在真核生物中，这种断裂和重新结合经常发生在长内含子序列中。由于这些序列最终通过 RNA 剪接被去除，基因的断裂和重新结合并

不需要十分精确以确定产生一个有功能的蛋白质。

- *水平基因转移*：一段 DNA 序列能够从一个细胞的基因组转移到另一个细胞——甚至是另一个物种的细胞。该过程在真核生物中很少见，而在原核生物中经常发生，并且区别于遗传信息从亲代传递到子代的“垂直”转移。

遗传性变异的这些形式——从基因内部的单个突变到整个基因组序列的大量重复、缺失、重排和增加——对于现今生物体的进化具有重要作用，而正如进化的不断延续，这类变异也延续着其功能。在这一部分中，我们将讨论遗传变异的基本机制及其对基因组进化的影响。但是首先，我们先看一下性行为的复杂性——很多生物体依赖于此向下一代传递遗传信息。

9.1.1 有性生殖生物体生殖细胞所产生的变异可以传递给后代

对于细菌及其他无性生殖的单细胞生物而言，遗传信息的传递相当简单。每个个体将其自身的基因组进行复制，在细胞分裂的时候平均分配给两个子细胞。这些生物体的系谱图，就是简单地通过细胞分裂将细胞与其祖先和后代联系在一起的一个图解。

对于进行有性生殖的多细胞生物体而言，家族谱系就显得有点复杂。首先，性行为使得两个个体的基因组得以混合并相配，产生与两个亲本不完全相同的后代。在这过程中，存在一种特殊的承担生殖功能的细胞——**生殖细胞**或配子，担当了遗传使者的作用。这种生殖细胞携带亲本的两个基因组中的一个拷贝，受精作用时两者结合产生一个新的个体（见第 19 章）。身体的其他细胞——**体细胞**——最终都会死亡，不会留下后代细胞（图 9-3）。产生生殖细胞的细胞谱系称为**生殖细胞系**，它反映了一系列生殖细胞的分裂活动，每个生物体都可以通过这种谱系去追溯它的祖先，最终可以追溯到我们所有生物体的祖先——35 亿年前地球上作为生命起源的第一个细胞。从这个观点来看，体细胞的存在仅仅是为了协助生殖细胞生存和繁殖。

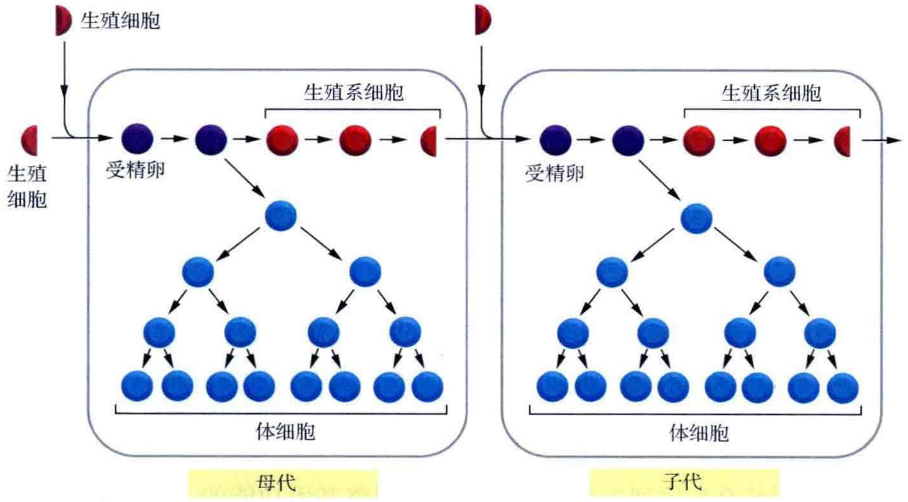


图 9-3 生殖细胞和体细胞具有不同的功能。有性生殖生物体的遗传信息通过一类称为生殖系细胞的特殊细胞传递给下一代（红色）。这类细胞产生具有生殖功能的细胞——生殖细胞（红色半圆）。生殖细胞和身体其他细胞（完整圆形）相比只包含一半的遗传物质，因此用半圆表示。当受精时两个生殖细胞结合在一起形成受精卵或合子（紫色），再次含有全套完整的染色体，能够产生更多的生殖系细胞和体细胞（蓝色）。体细胞的功能是构成生物体，但是并不负责将 DNA 传递给下一代。

这意味着生殖细胞的变异能传递给后代，而体细胞发生的变异——即便这种变异对于个体而言会有不利的影响（如癌变）——并不会遗传给它的后代（图 9-4）。因此，要追踪在进化过程中累积起来的遗传变异，我们将把重点放在生殖细胞上。

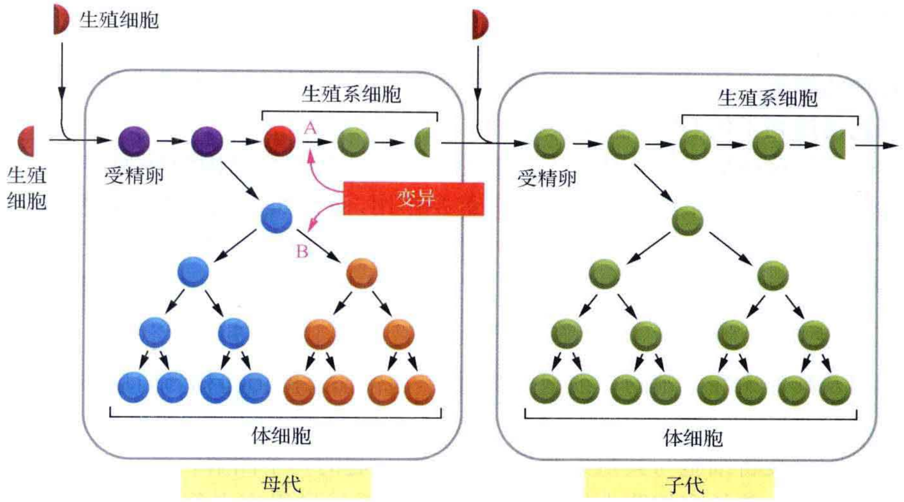


图 9-4　生殖系细胞和体细胞中的突变对于生物体具有不同的影响。发生在生殖系细胞中的突变(A)能够被传递给后代(绿色)。体细胞中的突变(B)仅仅对该生物体自身产生影响(橘黄色)而不能够传递给后代。如我们在第 20 章讨论的,体细胞突变是导致人类癌症疾病的主要原因。

虽然有性生殖包括基因组的混合——它能够影响遗传变异的传递——但是无论有性生殖还是无性生殖,其基本的遗传变异机制都是相同的,这一点我们将会讨论。

9.1.2　DNA 复制和维护的正常机制发生故障将导致点突变的发生

尽管有精确的机制使得 DNA 序列得以精确复制和维持,但是在细胞分裂时,生物体基因组的每一个核苷酸都存在一定的改变频率。这种在单个核苷酸上产生的变异称为**点突变**,主要是由于 DNA 复制或修复过程中比较罕见的差错而产生的(讨论见第 6 章)。

通过细菌(如大肠杆菌)实验我们已经能够直接计算出核苷酸的突变率。大肠杆菌在实验条件下进行培养,每 20～25 min 分裂一次;不到一天的时间,一个大肠杆菌就能够产生比地球上人类数目更多的后代——足以为任何点突变的发生提供条件。因此培养 10^9 个大肠杆菌就能够产生上百万个和原始细胞基因组有略微差别的突变体细胞。有的突变对于单个细胞具有选择性优势:如抗药性或者具有在缺失某种营养条件下生存的能力。因此当细菌在某种选择条件下培养生长时——添加抗生素或是去除某种必需营养物质——我们会发现其中发生了某种特殊突变的细菌可以生存下来而原始细菌不能,这就好比大海捞针一样(图 9-5)。以这种方法,我们能够从中了解到该特殊突变发生的概率,进而推算出大肠杆菌其他各种突变的突变率:在大肠杆菌中,每一代细胞每 10^9 个核苷酸对存在一个突变。人类的突变率是每 10^9 个核苷酸对中有 0.1 个突变——是大肠杆菌的 1/10。

点突变是通过对核苷酸序列进行微小调节从而调整基因功能的一种方式。点突变也能够破坏基因的功能。很多情况下,它们可能什么都没有干。在基因组的很多的区域,一个点突变对于生物体的外表或生存并没有影响;这种中性突变可能发生在一些不太重要的序列中,如内含子。突变也有可能改变了密码子的第三位核苷酸而不影响该密码子所编码的氨基酸,或者改变了氨基酸种类,但是新旧氨基酸之间具有可替代性。

9.1.3　点突变能够改变对基因的调节

在基因的编码区发生的点突变容易被发现,因为它们往往会改变相应蛋白质的氨基酸序列。但是在调控 DNA 序列中发生的点突变却不易察觉,看起来仅仅是在很长的 DNA 序列中

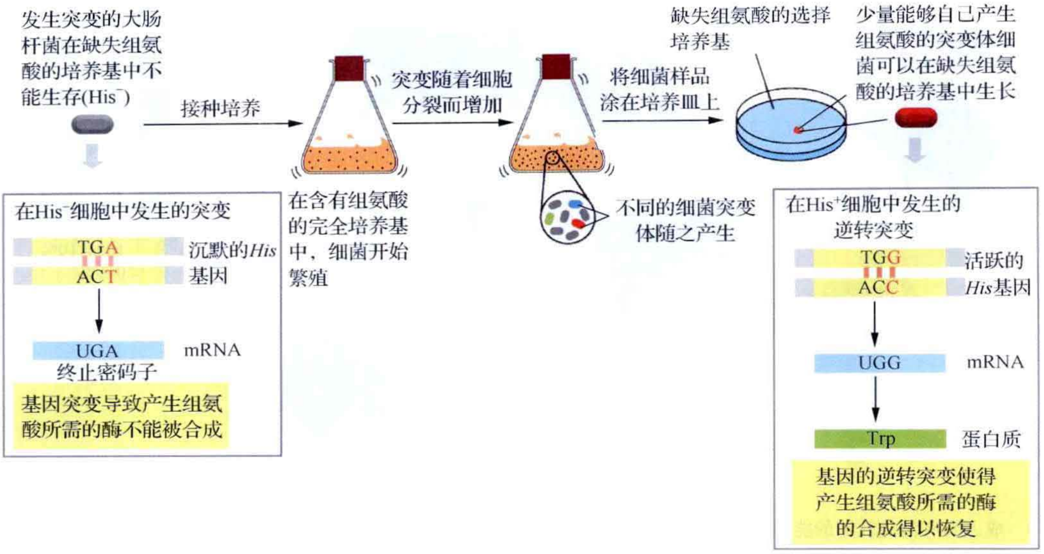


图 9-5 突变率能够通过实验计算出来。在本实验中，大肠杆菌的一个与组氨酸生产相关的基因发生了有害的点突变。这种大肠杆菌在外界提供组氨酸的条件下能够很好地生长和分裂。但是如果大量的这种大肠杆菌(如 10^{10} 个细胞)在缺少组氨酸的琼脂平板上蔓延生长，其中绝大多数将会死亡。幸存下来的细胞带有"复原"性质的突变(AT 向 GC 的转变)而使得原先的差错得以纠正，细菌也就能够在没有组氨酸的环境下继续生存下去。这种突变的发生率相当低，但是当一开始的大肠杆菌的基数很大的时候，这种突变就能够被检测和统计出来。这项实验显示在大肠杆菌中大约每 10^9 个核苷酸对中存在一个突变。

发生微小变化而已，而该 DNA 序列又似乎没有什么用。与此同时，调控 DNA 序列常常远离基因的编码区，因此识别和发现这些能够导致基因发生变化的调控 DNA 序列就显得比较困难。

尽管如此，我们仍旧发现了一些存在于调控 DNA 序列中的点突变，它们对生物体产生了深远的影响。例如，世界上有一小部分人群具有抗疟疾的能力，原因是这些人身上发生的一个点突变影响了*间日疟原虫*结合受体的表达。这个突变能够抑制人的红细胞表达疟原虫受体，从而使其不受疟原虫感染。调控 DNA 中的点突变在我们消化乳糖的能力上也起了作用。我们最早的祖先原本是乳糖不耐受的，因为用于分解乳糖的酶——乳糖酶——仅仅在婴儿时期产生，而不食用母乳的成年人就不再需要这种酶。大约 10 000 年以前，当人类开始从家畜身上获得乳汁，人群中慢慢出现了变异基因，使得即便是成人也能够表达乳糖酶。现在我们知道成人能够消化乳糖是因为他们乳糖酶基因的调控 DNA 序列中发生一个点突变，导致乳糖酶在人的一生中都得以表达。在这个层面上说，能够消化乳糖的成人属于"变异人"。这种新的特征在人群中的传播相当迅速，特别是在以牛奶作为一种重要营养来源的社会里(图 9-6)。

在乳糖酶基因调控序列中发生的这种进化相对离我们现在比较近(10 000 年前)，远在人类成为一个独立的种群之后。除此之外，很多更为古老的变异发生在其他一些基因的调控序列中；而其中的一些则被认为是导致了物种间的重要差异的原因(图 9-7)。

9.1.4 DNA 复制产生相关基因家族

点突变可以影响一个已存在的基因的活性，但是新的基因又是如何产生的呢？基因重复可能是其中最为重要的一种在原有基因基础上产生新基因的机制。一旦基因被复制，相同两个基因中的一个拷贝能够发生突变而实行新的功能，而另一基因则维持原有的功能。这两个拷贝也有可能都发生进化，使得原始的基因功能发生分离。这种重复基因功能的特殊化随着后代细胞基因复制时变异的累积而逐步发展起来。百万年来不断重复发生的**基因复制和分离过程**使一

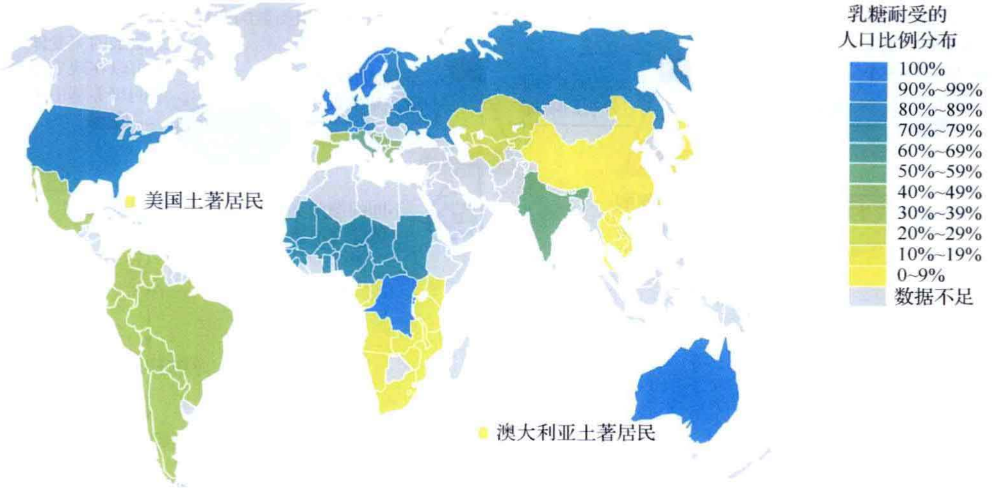


图 9-6　成人具有消化乳糖的能力随着牛群的驯养随之产生。大约 10 000 年以前，北欧和中非的人类开始驯养牛群，人类随之可以获得牛奶——特别是在饥荒年代——这使得那些在成年以后仍旧能够消化乳糖的人具有选择性优势，这种情况的发生是由于人群中出现了两个基因点突变——一个发生在北欧人群，另一个发生在中非人身上。从那时起两个点突变已经传递到世界的不同的地方。例如，北欧人向北美和澳大利亚的迁徙可以解释为什么大多数居住在那里的人能够分解乳糖而当地的土著居民对乳糖却是不能接受的。

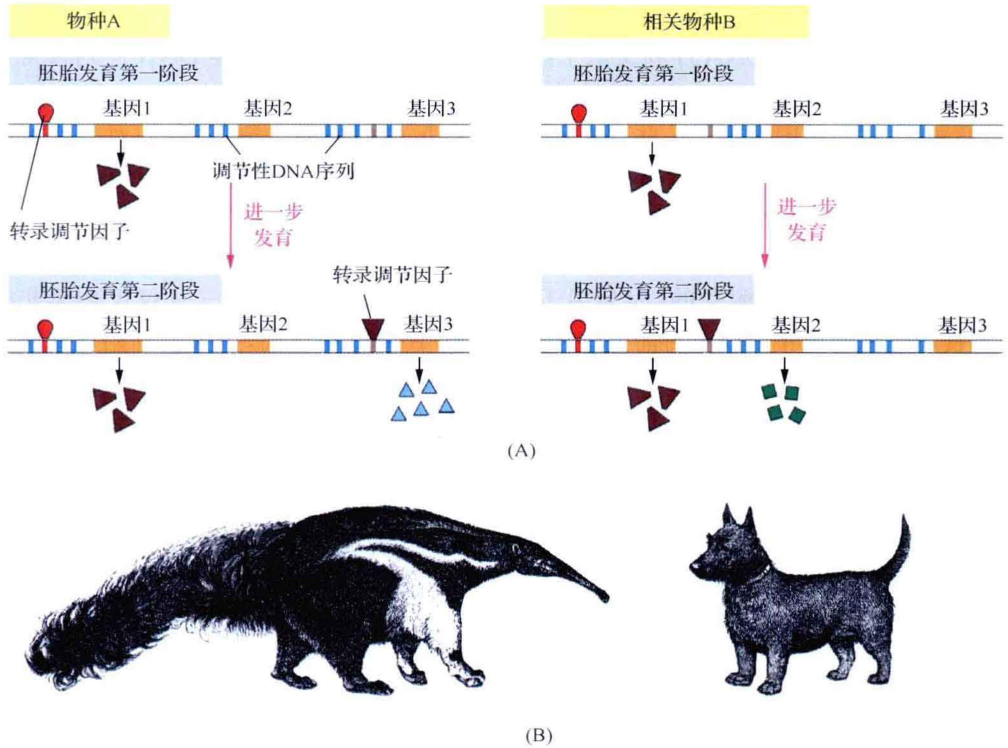


图 9-7　调控 DNA 序列的突变能够对物种的发展产生深远的影响。(A)在这个假想的例子中，物种 A 和 B 的基因组中含有一套相同的基因，但是调节其表达的调控 DNA 序列是不同的。在第一步中，两个物种表达出相同的蛋白质，但是在第二步中由于调控 DNA 的不同导致它们存在差异。(B)发育中基因调节的差异性能够对成体生物体的外表产生意义深远的影响。

个基因能够在基因组中产生一个家族的基因群，而其中每个基因都具有特殊的功能。对于基因组序列的研究分析发现了很多这类基因家族的例子。例如，枯草芽孢杆菌几乎一半的基因都能在基因组的其他地方找到相关基因(图 9-8)。脊椎动物中，珠蛋白基因家族明显来源于一个单一的原始基因。然而一开始的基因重复是如何发生的呢?

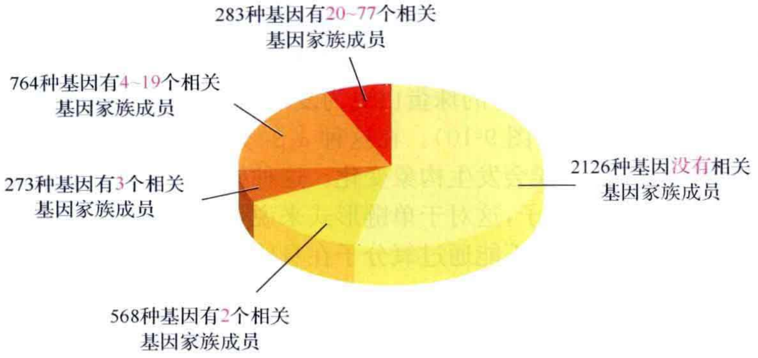


图 9-8　枯草芽孢杆菌的基因组中含有很多进化上相关的基因家族。在枯草芽孢杆菌基因组中，最大的基因家族包含 77 个基因，编码一大类运输物质通过细胞膜的膜转运蛋白(见第 12 章)。(F. Kunst et al., *Nature* 390: 249-256, 1997。蒙Macmillan Publisher Ltd 惠许)

一般认为很多基因重复来源于同源重组。同源重组一般发生在两条序列相似的长链 DNA 上，常常是在两个同源染色体相同的 DNA 区域(见第 6 章讨论，见 6.3 节)。但是有时候同源重组也发生在位于一个基因两端的短重复 DNA 序列上。当这种交换重组发生的时候，其中一条染色体最终将多出一个基因拷贝，而另一条则会丢失这段基因(图 9-9)。一旦一个基因以这种方式发生了复制，后续的交叉就能够以相同的机制在这套复制的基因上添加额外的基因拷贝。这导致在基因组中出现成组的相关基因群。

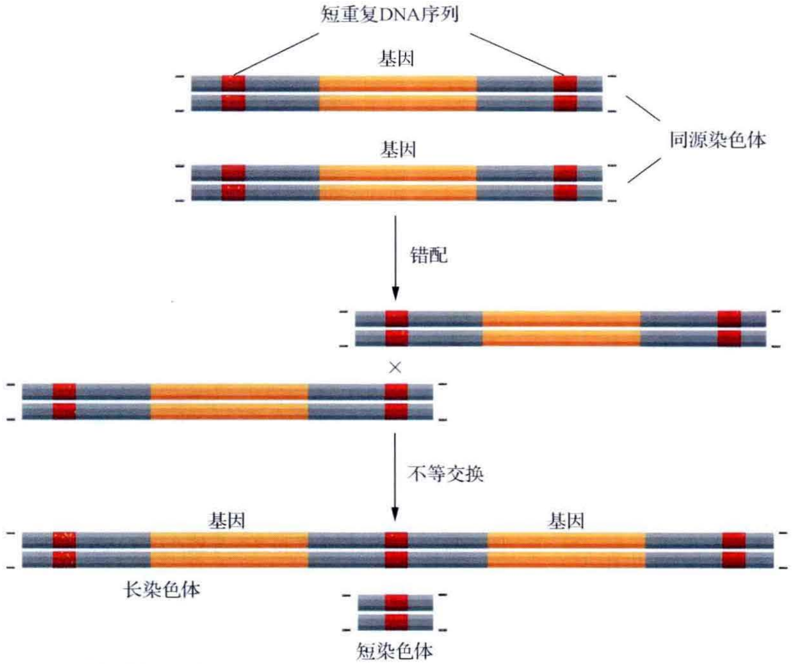


图 9-9　短重复 DNA 序列的同源重组能够产生基因重复。一对同源染色体能够在基因(橘黄色)两端的短重复序列上(红色)发生交换。某些情况下，这些序列是转座子的残余，在人类基因组中有许多拷贝(图 6-35)。经过如图所示的交换，长的染色体含有中间那个基因的两份拷贝，而短的染色体则缺失原先的基因拷贝。这种导致基因重复的交换重组称为不等交换。因为其产物是不等长的，如果在生殖系细胞中发生这种同源重组，一些后代将会继承得到长的染色体，而另一些将得到短的染色体。

9.1.5 珠蛋白的进化史显示了基因的复制和分离能够为生物体及其发展量身定制合适的蛋白质

基因的重复和分离能够产生新的蛋白质，珠蛋白的进化史就是一个很好的例子。珠蛋白家族成员氨基酸序列和结构的明白无误的相似性表明这些蛋白质来源于同一个祖先基因。

结构最简单、进化上最古老的珠蛋白分子是一条由 150 个氨基酸构成的多肽，在蠕虫、昆虫和低等鱼类中存在。和我们的血红蛋白一样，这种珠蛋白分子能够在动物体内运输氧气。然而，在成年动物及很多其他的脊椎动物中，携带氧分子的珠蛋白更为复杂，它由两种不同类型的四条珠蛋白链构成——α-珠蛋白链和β-珠蛋白链(图 9-10)。在这种 $\alpha_2\beta_2$ 分子中的 4 个氧分子结合位点相互作用，当它结合或释放氧分子的时候会发生构象变化。这种构象变化使得四链珠蛋白能够以全或无的方式有效地携带或释放氧分子，这对于单链形式来说是不可能的。这种效率对于大型多细胞生物体来说尤为重要，因为它们不能通过氧分子在身体内的简单扩散为组织提供充足的氧气。

α-和 β-珠蛋白基因来源于脊椎动物进化早期的基因重复。大约 5 亿年以前，由突变产生的基因重复最终导致产生了两个差别甚微的珠蛋白基因，分别编码了 α-珠蛋白和 β-珠蛋白(图 9-11)。渐渐地，当不同的哺乳动物开始从它们共有的祖先分化出来，β-珠蛋白基因开始自己的基因重复而出现了一种类 β-珠蛋白基因，这个基因特异地在胎儿时期表达(图 9-11)。该血红蛋白分子和成人的血红蛋白相比具有更高的亲氧力，帮助将氧气从母体传递给胎儿。

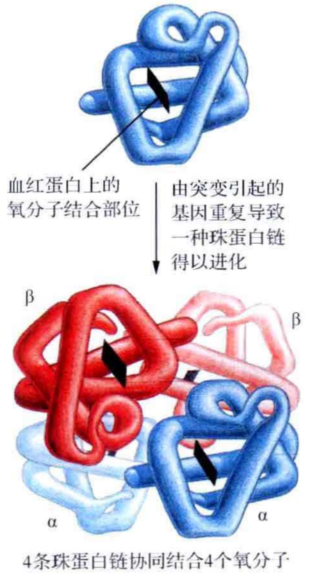


图 9-10　由单链珠蛋白分子产生出在人类及其他哺乳动物体内由 4 条珠蛋白链构成的血红蛋白。哺乳动物血红蛋白是由两条 α-珠蛋白链和两条 β-珠蛋白链构成的复合体。在低等哺乳动物中单链珠蛋白能够形成二聚体，当它们和氧分子结合的时候发生解链，表明四链血红蛋白复合物进化过程中的中间阶段。

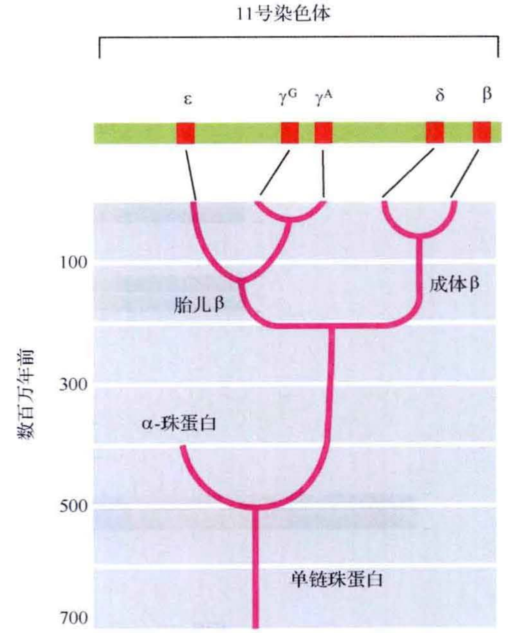


图 9-11　几轮基因重复和突变导致产生了人类的珠蛋白基因家族。大约 5 亿年以前，原始珠蛋白基因发生基因重复，产生了 β-珠蛋白基因家族和与之相关的 α-珠蛋白基因家族。在脊椎动物中，一个血红蛋白分子由两条 α 链和两条 β 链组成，如图 9-10 所示。此处所示的图根据许多不同生物的 β-珠蛋白基因的比较而得到。例如，γ^G 和 γ^A 基因编码胚胎血红蛋白，它们的核苷酸序列彼此之间的相似程度超过了它们中的任何一个与成体 β-珠蛋白基因的相似程度。在人类中，β-珠蛋白基因位于 11 号染色体的一个基因簇中。3 亿年前染色体的断裂事件导致 α-和 β-珠蛋白基因的分离；现在 α-珠蛋白基因位于人类第 16 号染色体(图中未注明)。

几轮基因重复使得 α-和 β-珠蛋白基因家族产生了额外的成员。这些重复基因或者由于其自身带有基因点突变而对血红蛋白的特性产生影响；或者因其调控 DNA 序列变化而对基因在何时何地以何种强度表达产生影响；结果导致每一个血红蛋白在氧结合和氧释放的特征上与其他稍有不同，非常适应它在发育中所表达的那个时期。

除了这些特化了的珠蛋白基因，α-和 β-珠蛋白基因簇中还有一些无功能的基因也同时得到了复制。这些基因在 DNA 序列上和功能珠蛋白基因相似，但是由于积累下来的许多突变破坏了编码的蛋白质，并防止其表达，因而这些基因是无功能的。和预期的一样，这类假基因的存在说明不是所有的基因重复都能产生一个新的功能基因。尽管我们在这里以珠蛋白的进化为例介绍基因的重复和分离，人类基因组中还是有很多基因家族是以这种方式得以进化的。

9.1.6　全基因组重复塑造了很多物种的进化史

在脊椎动物中，几乎所有基因都存在多个拷贝，这意味着不仅仅是基因发生零零碎碎的重复，还存在全基因组的重复。在脊椎动物进化的早期，基因组经历了两次连续重复，导致每个基因都有 4 个拷贝。在有的脊椎动物中，如鲑鱼和鲤鱼(包括斑马鱼；图 1-39)，可能还有一次额外的重复，导致它们的基因有 8 个拷贝。

脊椎动物进化过程中，全基因组重复的历史现在已经很难精确追溯，因为自这些古老的进化事件发生以后还发生了很多其他变异。然而在某些物种中由于发生时间比较晚(进化上来讲)，导致全基因组重复的痕迹十分明显。例如，爪蟾种属通过基因组重复或三倍重复衍生出一系列近亲物种(图 9-12)。当某个个体的生殖系细胞进行基因复制而没有发生细胞分裂时，这种大规模的基因重复就会发生。一旦生殖细胞发生突发性的基因组重复事件，重复就会传递给其他的生殖系细胞，乃至它的后代。

图 9-12　不同亚种的爪蟾 DNA 含量不同。非洲爪蟾 *X. tropicalis* 亚种(上图)体细胞的染色体是正常的两倍体；而 *X. laevis* (下图)亚种是四倍体，它们的细胞内由于基因组重复而含有双倍的 DNA。(蒙 Enrique Amaya 惠许)

9.1.7　新的基因可通过同一外显子的重复而产生

进化过程中 DNA 序列的重复并不仅仅局限于基因家族的拓展，还可以通过基因内部短 DNA 序列重复来对单个基因进行调节。正如我们在第 4 章讨论的，很多的蛋白质由一系列更小的蛋白结构域构成。一些蛋白质——如抗体(图 4-29)或纤维蛋白，如胶原蛋白——由很多个相同结构域连接在一起而构成。编码这些蛋白质的基因通过基因内单个 DNA 序列的反复重复而形成。

在真核生物中，这类基因的每个蛋白质结构域通常由一个独立的外显子编码。基因中这些结构域的重复可以通过长内含子 DNA 序列的断裂或重新连接而实现，而这些内含子位于编码蛋白质结构域的外显子两侧(图 9-13)。如果没有内含子，原始基因上很少有位点允许同源染色体间发生重组交换重复该外显子而不破坏它。因此，真核生物 DNA 编码区一系列短的外显子被内含子隔开极大地促进了新蛋白质的产生(图 7-17 和图7-18)。

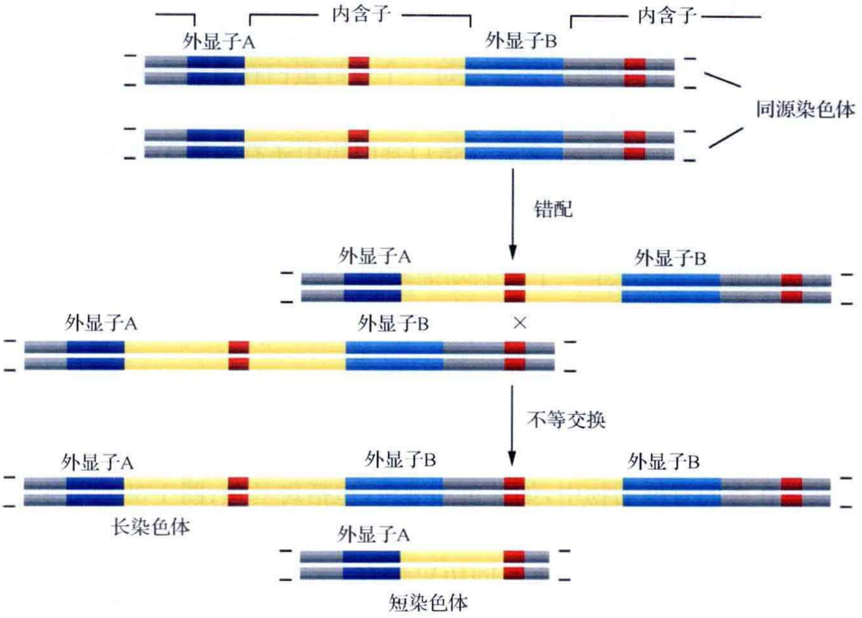


图 9-13 重组事件产生外显子重复。图中总的模式和图 9-9 相同，一个短的重复序列以红色表示；然而此图只是基因（蓝色）的一个外显子重复而不是整个基因的重复。原始基因的 mRNA 还有两个外显子 A 和 B，而长的染色体将产生三个外显子（A、B 和 B 的一个拷贝）的 mRNA。由于重复的外显子是由一个含有完整拼接序列的内含子（以灰色/黄色表示）连接的，修饰过的核苷酸序列可以很容易地拼接产生一个有功能的 mRNA。

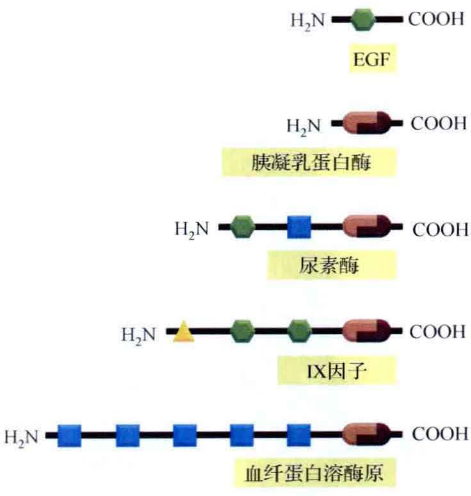


图 9-14 外显子混编能够促使蛋白质结构域重新组合而产生新的功能蛋白。每种符号代表一个不同的蛋白质结构域。在进化过程中，这些家族末端相连（如图所示）产生现今较大的蛋白质。

新基因也可以通过外显子混编而产生。允许基因内的外显子复制的重组行为也可以在两个不同的基因间发生，将编码不同蛋白质的结构域的两个外显子拉到一起，重组成一个新的有功能的蛋白质结构域——这个过程称为**外显子混编**。两个内含子的断裂或是重新组合并不需要很高的精确性，这就为不同基因内含子的重组提供了更高的机会，使得外显子更有机会被结合从而产生杂合基因。许多现存的蛋白质中都存在这种重组结果的痕迹，它们是许多不同的蛋白质结构域的拼凑物（图 9-14）。

有人提出人类基因组（大约 24 000 个基因）编码的所有蛋白质是从几千个独立的外显子重复和混编而来，每个独立的外显子编码 30～50 个氨基酸。这个设想提示蛋白质结构的多样性来源于将一些小的通用的“零件”通过不同的组合拼接而成。

9.1.8 转座因子的移动加速了基因组进化

在第 6 章中提到的转座子是遗传突变产生的另一个重要的因素，对于现代基因组的构成产生了举足轻重的影响。这些寄生 DNA 序列具有克隆基因组和在基因组中进行扩散的能力。在这个过程中，它们往往能够破坏原有的基因或改变其调节；有时候它们甚至能够通过连接转座序列和宿主基因序列而产生新的基因。

转座因子插入基因的编码序列或调控区是一些生物中“自发”突变较常见的原因。如果转座子直接座落到编码序列中将会严重地破坏基因活性，这样的插入突变将破坏基因编码有功能蛋白质的能力。例如，引起血友病的Ⅷ因子基因的多个突变，就是由于转座因子的插入。

转座因子的活性还往往能够改变原有基因的调节方式。例如，如果转座因子正好插入到基因的调节区域，对于该基因的时空表达常会产生很大的影响(图 9-15)。很多转座因子带有能够被特殊转录调节因子识别的 DNA 序列；一旦这些因子插入到某个基因的附近，那么该基因将受到这些新的转录调节因子的调控，从而影响基因的表达。因此转座子被认为是发育上的改变的主要因素，在多细胞动植物的身体图式进化过程中尤为重要。

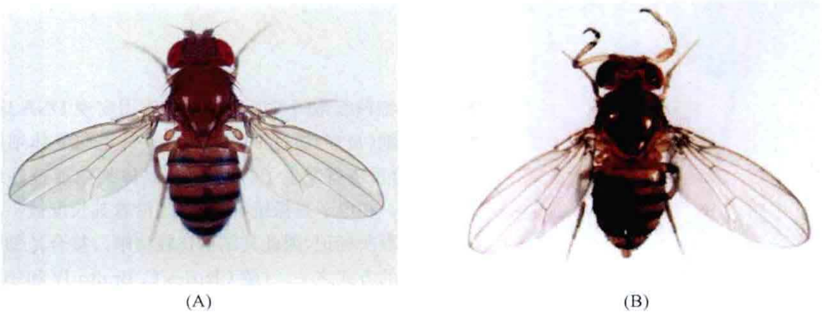


图 9-15 由转座子引起的突变能够对生物体的躯体图式产生巨大的影响。(A)正常果蝇(*Drosophila melangaster*)。(B)果蝇的触角变成了腿。该果蝇成腿基因的调控 DNA 序列发生突变，使得该基因在原先应该长出触角的部位异常激活表达。尽管这种特定的改变对果蝇无益，但它说明由转座子引起的突变在生物体中能够产生剧烈的变化。(图 A 蒙 E. B. Lewis 惠许；图 B 蒙 Matthew Scortt 惠许)

最后，转座子还能够通过充当同源重组的靶点，为基因组重排提供了机会。例如，形成β-珠蛋白基因簇的重复被认为是由散在于基因组中的类 *Alu* 序列(图 9-9，图 6-35)的同源重组产生。然而，转座子在基因组的进化史上还有更直接的作用。除了移动它们本身外，转座子偶尔会移动或重排宿主基因组中与其邻近的 DNA 序列。当被同一个转座酶识别的两个转座因子整合进相邻的染色体位点时，它们之间的 DNA 就能同时被转座，这使得真核生物的外显子能够在基因组中发生移动，进而通过已有的外显子重排产生新的基因(图 9-16)。

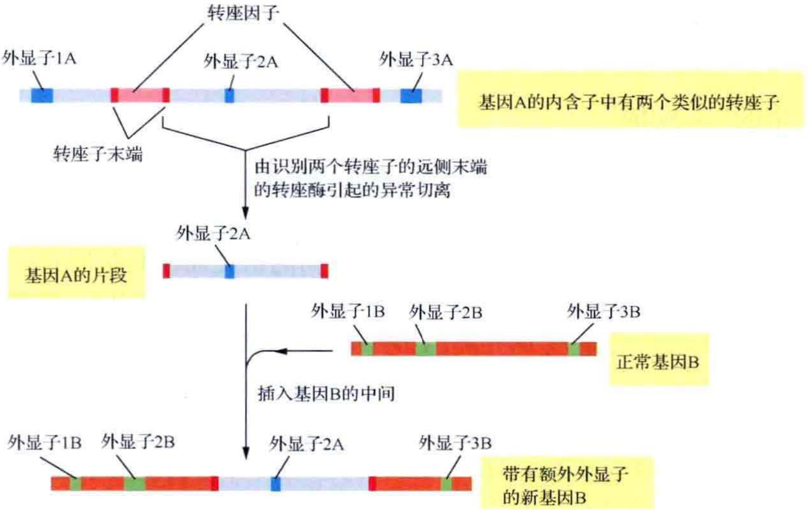


图 9-16 转座子引起外显子重排。当两个同类型的转座因子(红色)恰好插入同一条染色体彼此邻近的位置时，转座机制偶尔会利用两个不同因子的末端(而不是同一因子的两个末端)，把它们之间的染色体 DNA 移到新的染色体位点。因为相对于外显子而言，内含子非常大，这种转座事件的常见结果是像图例中那样新的外显子插入已存在的内含子中。

9.1.9 基因的水平转移能够导致物种间基因交换

到目前为止我们讨论的主要是单个物种基因组的遗传变异。然而，基因或基因组其他DNA序列也能够在不同物种间发生交换。这种交换被称为是**水平基因转移**，在真核生物中比较少见，多发生于细菌(图9-17)。

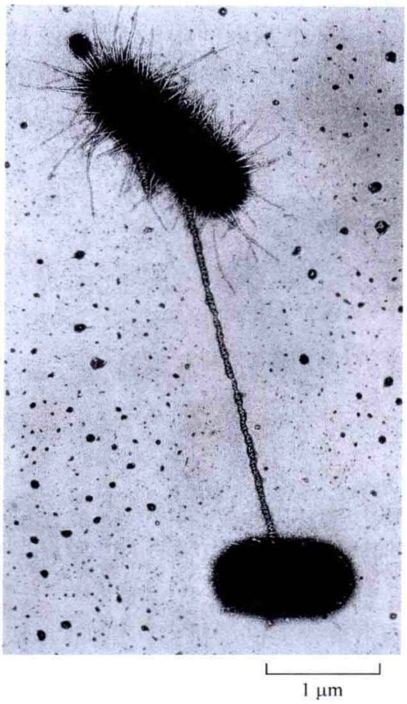


图9-17 细菌细胞间可以通过接合作用实现DNA序列的转移。当供体细胞(顶部)通过细胞表面的性纤毛与受体细胞(底部)相连接，接合反应就发生了。DNA从供体细胞通过性纤毛进入到受体细胞。在电子显微镜下，性纤毛沿着其长度被一种与之特异结合的病毒所标记，因此其结构比较清晰。接合是细菌产生水平基因转移的方式之一。(蒙Charles C. Brinto Jr和Judith Carnahan惠许)

例如，在过去的1亿年里，大肠杆菌*E. coli*从其他物种中获得了其自身基因组1/5的遗传物质。这种遗传物质交换现在被认为是导致有害抗药细菌产生的一个原因，如物种间抗抗生素基因的传递。这种基因交换促使受体细菌能够躲避现代医药对细菌感染的攻击，从而具有选择优势。这使得很多原先有效的抗生素对现在的细菌不再产生作用。例如，导致淋病的细菌*Neisseria gonorrhoeae*已经具有抗青霉素的特性；因此这种抗生素已经不再是治疗淋病的主要方式。

9.2 重建生命的“家族树”

鉴于对基因组变异的基本分子机制的认识，我们可以通过比较和分析基因组序列来解密我们的进化史。而这种分析给我们带来的最为惊人的发现是即便是两个进化水平甚远的物种也常能在它们的基因组中找到**同源基因**——由于具有共同的祖先而使其基因具有相似的核苷酸序列。很多人类基因都可以在其他物种中准确无误地找到它们的同源基因，如蠕虫、果蝇、酵母乃至细菌。线虫*C. elegans*、果蝇*D. melanogaster*和脊椎动物*H. sapiens*(人类)——最先破译全基因组序列的三个物种——具有较远的亲缘关系：脊椎动物的进化被认为早在6亿多年就开始从线虫和昆虫的进化路线中脱离出来。但是当把线虫*C. elegans*的19 000个基因、果蝇*D. melanogaster*的14 000个基因及人类*H. sapiens*约25 000个基因进行系统地对比时，我们发现每个物种大约50%的基因都可以在另外的一个或两个物种中找到同源基因。换句话说，人类至少一半的基因在线虫、果蝇和人类的原始祖先中就已经存在。

通过追溯基因间的这种关系，我们可以比较不同物种之间的进化关系，将每一种细菌、动

物、植物或真菌放到一个简单而又巨大的生命的家谱之树中。在这部分内容里,我们将讨论这些亲缘关系如何被确定,而有关我们的遗传所得它们又能告诉我们什么。

9.2.1 具有选择性优势的遗传变异易于被保留

生物体的进化往往是进步的,但是在分子水平上这个过程又是随机的。来看一个点突变的命运如何。正如我们之前所讨论的,只有在很偶然的情况下这种点突变才是有利的;很多时候它对于生物体没有影响;有时甚至会对个体产生严重的伤害——如破坏了一个关键蛋白质的编码序列。上述第一种情况所产生的有利变异更趋向于被延续,因为得到这种突变的个体具有更强的自我增殖能力。而第二种情况的变异——选择性中性变异——能否被传递下去是一个随机的问题,取决于突变个体或其同类是否能够得到资源顺利繁殖。相反地,产生严重后果的有害突变很难得到延续:突变的个体由于致死而难以留下后代。这种差错和检验——突变和自然选择——无止境地持续着,导致生物体得以慢慢进化:它们的遗传特异性发生了变化,发展出新的方法去探索环境,与别的个体进行竞争以生存,从而成功地繁衍自身。

很明显,在进化过程中基因组的某些部分更容易积累突变。一段不编码蛋白质或 RNA、也没有重要调节功能的 DNA 序列可随意地发生突变,其突变率仅受到随机突变率的限制。相反地,编码重要蛋白质或 RNA 分子的基因内部的突变就没有那么容易被保留:一旦突变发生,个体常常被淘汰。这种基因往往高度保守:换句话说,它们所编码的蛋白质在物种之间十分相似。在过去的 35 亿年甚至更长的进化史中,最为保守的基因现在仍旧可以在所有生物体中鉴别出来。这种基因(编码关键蛋白质如 DNA 和 RNA 聚合酶)是我们在追溯研究生命树中进化距离甚远的物种的亲缘关系时所必须要拿出来进行分析的。

然而对于具有较近亲缘关系的物种,关注中性突变往往更具有信息价值。这种突变的累积比较稳定,不受选择压力的制约。因此它们本身就是一个简单可读的进化钟,可以告诉我们这两个物种从进化上发生分歧到现在所历经的时间。例如,通过对这种核苷酸的变异进行比较,我们建立了一种精确的**系统发生树**来显示高等灵长类动物的进化关系(图 9-18)。

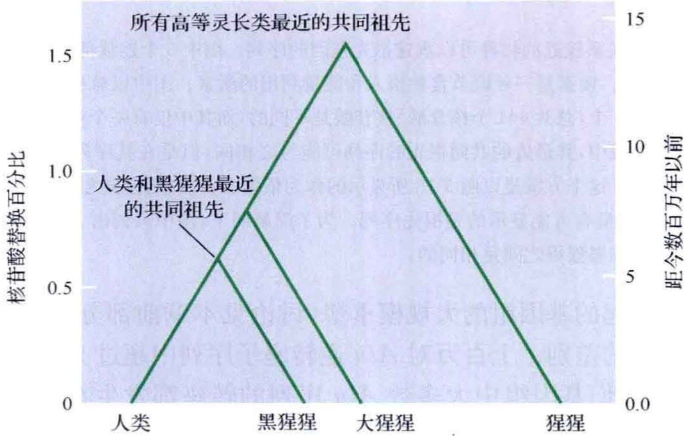


图 9-18 系统发生树显示现代生物体之间的进化关系。在这个高等灵长类家系树中,人类和黑猩猩的亲缘关系比大猩猩或是猩猩更近,因为从核苷酸序列的相似程度来看,人类和黑猩猩之间的核苷酸序列相对另外两个物种而言,其差别更加微小。如图所示,这 4 个物种的基因组序列和它们最近的共同祖先相比大约有 1.5%的差异。由于每一谱系的变异都是独立发生的,因此任何两个物种之间的差别将是其各自和它们共同祖先之间差异的两倍。例如,人类和猩猩间序列的差异性略高于 3%,而人类和黑猩猩的差异约为 1.2%。尽管此系统发生树仅仅以核苷酸序列作为依据,然而由此估计的进化时间,如图右边所示,来源于化石记载的数据。(由 F. C. Chen 和 W. H. Li 修改,*Am. J. Hum. Genet*. 68:444-456,2001。蒙 Elsevier 惠许)

9.2.2 人类和黑猩猩在基因组构成及序列细节上都具有相似性

人类和黑猩猩的亲缘关系十分相近，这使得重建其共同祖先的基因序列成为可能(图 9-19)。这两个物种不仅具有相同的 25 000 个基因，连这些基因在两个物种的染色体上的分布方式也近乎相同。唯一不同的是人的 2 号染色体是由两段不同的染色体结合产生，而在黑猩猩、大猩猩和猩猩中，这两段染色体还是分开的。

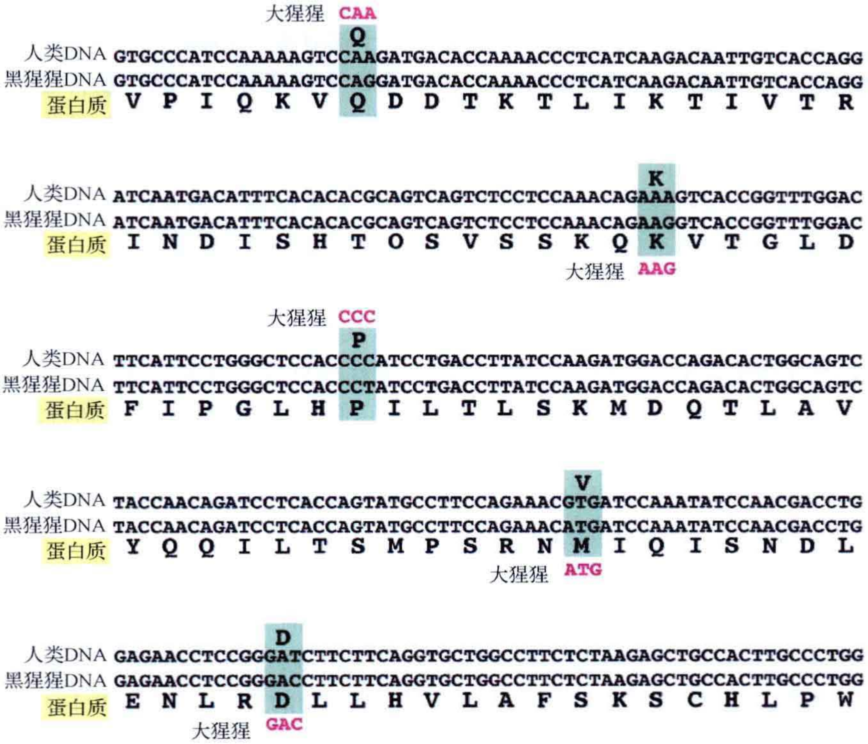


图 9-19 **通过比较现今亲缘关系较近的物种可以重建祖先基因的序列。** 图中 5 个连续部分的序列显示的是人类和黑猩猩瘦素基因编码区一段 DNA。瘦素是一种调节食物摄入和能量利用的激素。图中以绿色方框标记的密码子，在人类和黑猩猩的这部分序列中只有 5 个(总共 441 个核苷酸)核苷酸是不同的，而其中仅有一个变异引起了氨基酸序列的变化。在这两个物种序列相同的区域中，其最近的共同祖先的序列可能与之相同，但是在其序列有差异的地方，就可以用大猩猩的序列(粉红色)来做决断。这个方案是以图 9-18 所显示的作为依据：人类和黑猩猩之间的差异显示了进化史上相对较近的事件，而大猩猩的序列最有可能显示的是祖先序列。为了简易明了，图中只列出了瘦素的前 300 个核苷酸序列。后 141 个核苷酸序列在人类和黑猩猩之间是相同的。

即便是由转座子引起的基因组的大规模重塑(讨论见本章前部分内容)也仅仅使人类和黑猩猩的基因组产生细微的差别。上百万对 *Alu* 逆转座子序列中超过 99%出现在这两个物种相对应的位置上，说明在我们基因组中大多数 *Alu* 序列的转座都发生在人类和黑猩猩进化分支产生之前。但是，正如之前所讨论的，*Alu* 家族成员仍旧可以发生转座，在少数例子中我们发现一些新的 *Alu* 插入序列能够导致人类遗传性疾病的发生。其中还包括将该 DNA 序列转座插入到患者双亲原先没有被插入的基因组位点上。

9.2.3 功能上重要的区域以保守 DNA 序列岛的形式出现

当我们探究到更远的进化历史，将我们的基因组序列和一些亲缘关系更远的物种进行比较时，进化的图像就改变了。例如，人类和小鼠的谱系在约 7500 万年前发生分离，它们包含相同

大小的基因组和功能上相同的基因,基因组中都散布转座子。但是尽管人类和小鼠的转座子具有相似的序列,它们的分布却不同。这暗示了这些转座子自两个物种分离以后就各自独立地进行复制和移动(图 9-20)。除了转座子的移动,基因组的大尺度结构也由于多次染色体的断裂和重组而被搅乱——据估计大约发生过 180 个"断裂和重组"事件。其结果是人类和小鼠基因组的整体结构已经发生了巨大的变化。例如,人的着丝粒大多处于染色体的中间,而小鼠的则位于染色体末端。

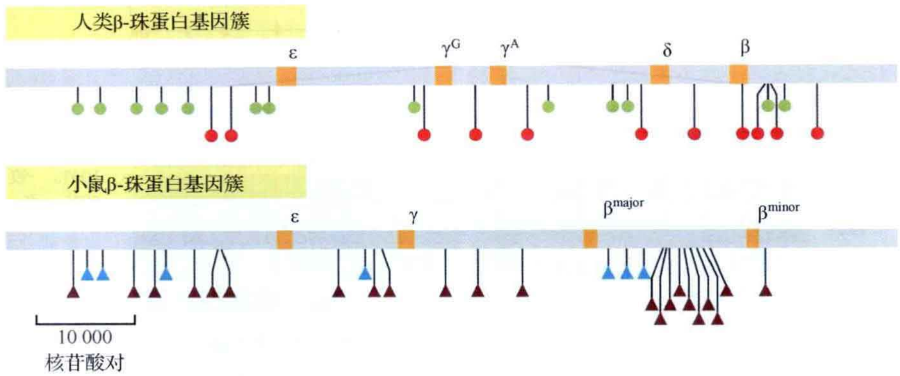


图 9-20 人类和小鼠基因组中转座子的位置显示这两个物种发生分离以后漫长的进化史。这是人类第 11 号染色体上的一段序列(图 9-11),包含 5 个功能性的类 β-珠蛋白基因(橘黄色);而在小鼠基因组相应的位置只包含 4 个。在人类 β-珠蛋白基因簇中,*Alu* 转座序列(绿色圈)和 *L1* 序列(红色圈)在图中都有显示。在小鼠基因组中,*B1* 元件(和人类 *Alu* 序列相似;蓝色三角)和 *L1* 元件(和人类 *L1* 序列相似;棕色三角)也有标注。珠蛋白结构基因中转座子的缺失归咎于自然选择,任何破坏基因功能的插入都将被淘汰。在第 6 章中对 *Alu* 序列和 *L1* 元件有详尽的介绍。(蒙 Ross Hardison 和 Webb Miller 惠许)

尽管如此,撇开遗传混编不说,我们还是可以识别出很多**保守相似性的单元**,也就是两个物种中相对应的基因以相同的次序串在一起的区域。这些基因在共有祖先的基因组中是相邻的,尽管染色体发生巨大变动,它们在现今这两个物种中仍旧相邻。人类和小鼠基因组超过 90% 的序列可以归类到这种保守相似性的区域。在这些区域中,我们可以将人类和小鼠的 DNA 序列对齐排列,从而对它们的序列进行详细的比较。这种全基因组范围的序列比对显示在这两个物种分离至今 8000 万年中约有 50%的核苷酸序列发生了改变。然而相对于这些差异,我们能够开始清楚地识别哪些区域中的变异是不耐受的,因而使得人类和小鼠在此处的序列仍旧基本相同(图 9-21)。在这里,这些序列由于**净化选择**而被保留——当个体携带的突变会破坏其一些重要的功能,那么该个体将会被淘汰。

图 9-21 突变的累积导致人类和小鼠的核苷酸序列发生了巨大的差异。图中两部分序列是人类和小鼠瘦素基因的一段 DNA。序列中发生单核苷酸替代的部分用绿色框框出,发生核苷酸添加或是缺失的部分用黄色框框出。注意,外显子编码的序列和与之相邻的内含子序列相比具有更高的保守性。

比较基因组学的功能能够通过比较人类基因组和其他别的生物体基因组而得到增强,如大鼠、鸡和狗。这种基因组的比较利用了已经延续了亿万年的"自然实验"的成果,其重点在基因组中一些较为感兴趣的区段。结果显示在人类基因组中约有 5%的 DNA 序列在其他哺乳动物

中高度保守(图 9-22)。令人惊讶的是,其中只有 1/3 的序列编码蛋白质,有些保守的非编码序列是调控 DNA,而别的序列只编码 RNA,不再继续翻译成蛋白质。但是大多数这些序列的功能还是未知。该发现出乎人们的意料,不禁让科学家们感叹我们现在对于脊椎动物细胞生物学的认知远远少于我们曾经所以为的。我们还有机会去实现新的发现,也还有更多的惊喜在等着我们。

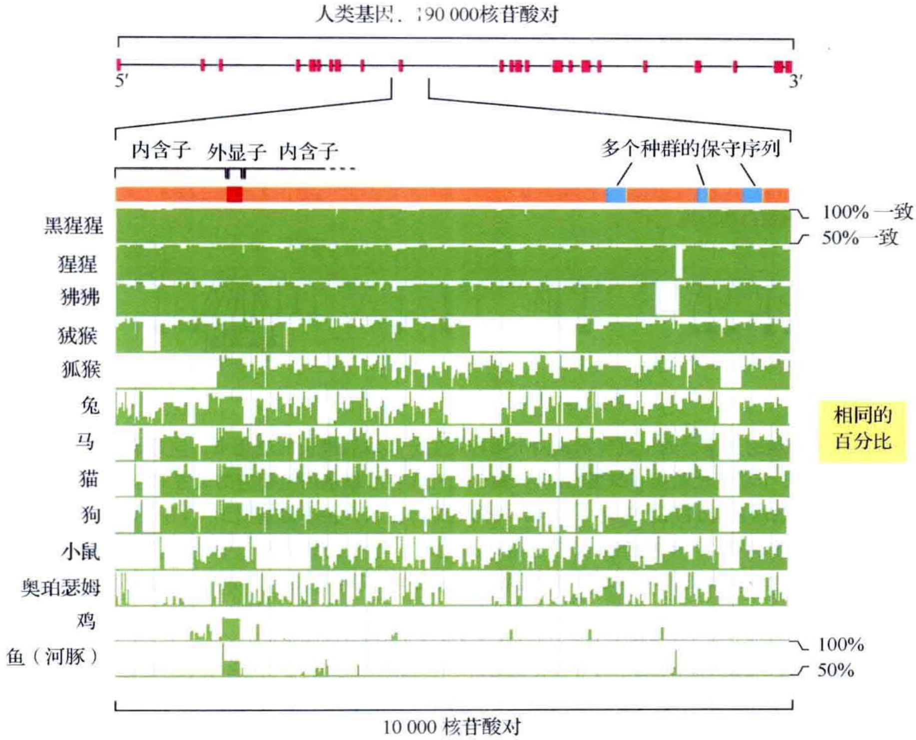


图 9-22 从不同脊椎动物核苷酸序列比较中发现的高度保守序列。图中所显示的是编码人类膜转运蛋白基因的一段核苷酸序列。完整基因的外显子在图中以品红色表示(顶部)。在基因的放大区域中,外显子以红色表示。图的下方是把人类 DNA 序列和其他脊椎动物序列进行对齐排列;在人类基因中连续排列 100 个核苷酸对序列,其相同度倘若高于 50%,就以绿色标出。序列中外显子的部分在所有物种包括鸡和鱼中,都是保守的。内含子的三个部分在哺乳动物中是保守的,但是在鸡和鱼中就有很大差异,以蓝色表示。人类基因组中多数保守的内含子的功能(包括这三个)在此处没有标出。(蒙 Eric D. Green 惠许)

9.2.4 基因组比较显示脊椎动物的基因组能够很快地获得和失去 DNA

回溯更远的进化历史,我们能够将我们的基因组和鱼类的基因组进行比较。鱼类和哺乳动物的谱系分离大约是在 4 亿年前。如此长的时间,足以导致随机序列变异的发生,并且让各种选择压力导致两个物种间核苷酸序列的相似性被消除,除了那些由于净化选择而保留下来的相似性。因此人类和鱼的基因组之间的保守区域就显得更加令人关注。在鱼的基因组中,我们仍旧能够识别出和人类基因甚至是相似的调控 DNA 序列。另外,任何已知基因的重复程度又是不同的,这导致在这两个物种中基因家族成员的数目不尽相同。

另一个令人值得注意的事件是尽管在所有脊椎动物基因组中包含有大致相同的基因数目,但它们的基因组的大小差别很大。虽然人类、狗和小鼠的基因组大小范围相同(3×10^9 对核苷酸),鸡的基因组却只有它们的 1/3。基因压缩的一个极端例子是一种名为 *Fugu rubripes* 的河豚(图 9-23),其基因组只有一般哺乳动物基因组大小的 1/10,主要是因为它们的内含子很小。

其内含子及其他一些非编码 DNA 序列缺少重复 DNA 序列，而这在大多数哺乳动物基因组中却是大量存在的。但与其他哺乳动物基因组进行对比时，多数河豚的内含子在基因组中的位置相当保守(图 9-24)。由此可见，脊椎动物内含子的结构在鱼类和哺乳动物的共有原始祖先中就已经存在。

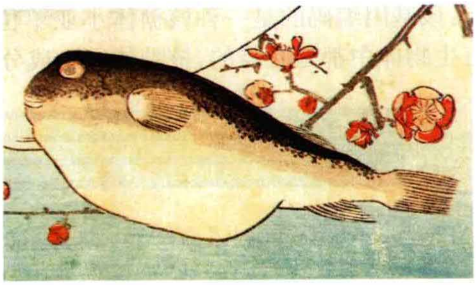


图 9-23 河豚 *Fugu rubripes* 的基因组被明显压缩。河豚 *Fugu* 的基因组只有 4 亿个核苷酸对，尽管和斑马鱼的基因数量基本相同，但其基因组的大小只有斑马鱼的 1/4。(来源于 Hiroshige 的木刻画，蒙日本 Arts and Designs 惠许)

那么是什么因素决定了现代脊椎动物基因组的大小呢？通过对很多生物体基因组序列进行详尽的比较，我们惊讶地发现一些小段序列能够在基因组中很快地丢失或获得。河豚的基因组如此之小很有可能是因为其丢失 DNA 的速度快于其获得的速度。时间一长，这种不平衡就导致这些 DNA 序列的大规模的“清除”，当然这些清除是在可接受的范围内。回过头来看，这种过程对于生物学家倒是大大有利的：通过对河豚基因组的“瘦身”，这种进化方式最终提供了一种脊椎动物基因组的简易版本，这个版本中留下来的 DNA 很有可能对生物体具有重要的功能。

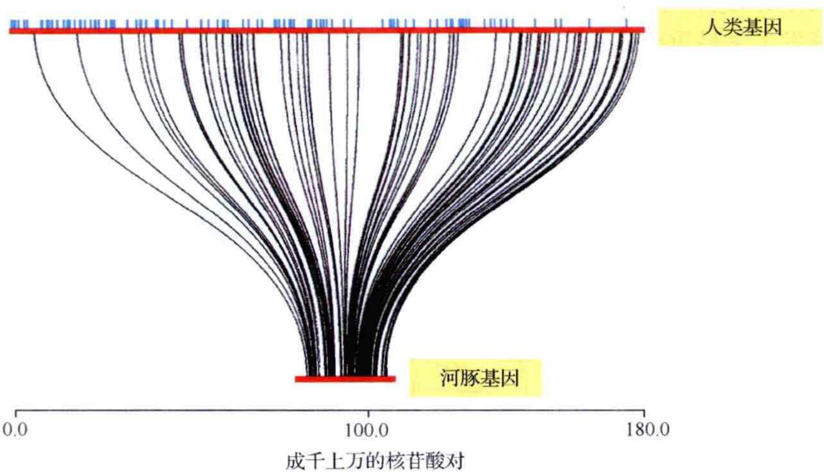


图 9-24 河豚和人类基因的内含子分布是保守的。人类和河豚两者编码 Huntingtin 蛋白的核苷酸序列的比较。这两个基因(红色)都含有 67 个外显子，这些外显子的排列一一吻合，在图中通过黑色曲线连接。由于这个基因在人类基因组中具有庞大的内含子序列，因此人的 *huntingtin* 基因比在河豚中大 7.5 倍(180 000 对应于 24 000 个核苷酸对)。人类之所以含有很大的内含子序列，一部分原因是由转座子引起的，图中转座子的位置由蓝色竖线标出。人类 *huntingtin* 基因的突变会导致亨廷顿舞蹈病——一种遗传性的神经退行性疾病。(来源于 S. Baxendale et al., *Nat. Genet.* 10:67-76, 1995。蒙 Macmillan Publishers Ltd. 惠许)

9.2.5 序列保守性使得我们能够追溯最远的进化上的亲缘关系

当我们追溯越来越远的物种的基因组——猿类、小鼠、鱼类、果蝇、蠕虫、植物、酵母，直到细菌——我们发现追溯得越远，这些物种和我们的基因组的相似性就越少。但是尽管经历了无数的进化分离，进化选择仍旧在这些生物体中保留了几百个基本的重要基因。通过比较这些基因在不同物种中的序列，我们能够由此了解到物种发生分离的远近关系，从而构造出一棵进化树，回顾到我们最早的祖先——也就是我们所有生物体生命起源所依赖的那个细胞。

为了构建这样的一种进化树，生物学家将重点放在一个在所有生物体中都十分保守的基因

上：该基因编码的是一种核糖体小亚单位 RNA(rRNA)(图 7-31)。由于蛋白质翻译过程在所有生物体中都是必需的，核糖体这一成分自生命出现以来就一直十分保守(图 9-25)。

图 9-25 有些遗传信息从生命起始至今一直保留下来。图中是小核糖亚基 rRNA(图 7-31)。来自进化关系较远的三个物种(古细菌 *Methanococcus jannaschii*、细菌 *Escherichia coli* 和真核生物 *Homo sapiens*)的小核糖亚基 rRNA 的一段相应的核苷酸序列平行排列。其中物种间的同源序列以绿色阴影标记；人类基因的序列在图的底部重复标注了一次，从而使得三个物种间的两两比较能够一目了然。在 *E. coli* 序列中间有一个黑点，暗示这个位置的核苷酸要么是在从细菌进化的过程中发生了缺失，要么是另外两个物种的相应位置发生了添加。值得注意的是这三个进化关系甚远的物种都以一种差不多相同的幅度在彼此之间发生分离，而同时又保持了一定的相似性。

和构建灵长类动物进化树的方法一样(图 9-18)，这个核糖体小亚单位 rRNA 的核苷酸序列勾画了一个简单而又包罗万象的进化树(图 9-26)。尽管这个系统发生树的很多方面和传统分类学所预期的一致(传统分类学以生物体的外在表型为依据)，但还存在不少出乎意料的地方。有些物种曾经被传统生物学一度定义为“细菌”，然而在系统发生学的分类中发现它们的祖先存在极大的差异，这种差异之大就好比是任何一种原核生物和真核生物之间的差异一样，也许这就是系统发生学最重要的一个认识。正如第 1 章所讨论的，现在已经知道原核生物由分成两个全然不同的种类组成——**真细菌**和**古细菌**，这两个物种在地球生命史的早期就发生了分离，因此生物界包含有三个种类或是领域：真细菌、古细菌和真核生物(图 9-26)。

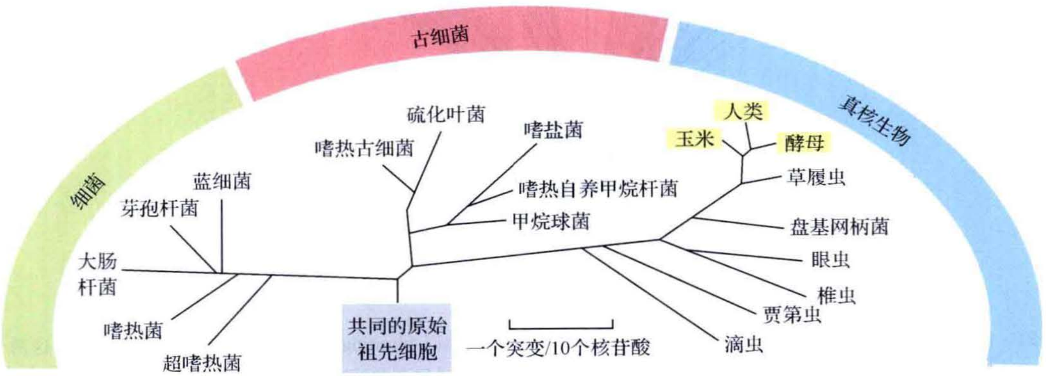


图 9-26 生命进化树包含三个主要的部分。生命进化树的每一个分支由该部分的一个代表成员进行标记，每个分支的长度对应于这些物种间小核糖亚基 rRNA 序列的差异程度(图 9-25)。注意，我们能够用肉眼看到的所有的生物体——动物、植物和真菌(用黄色标注)——仅仅代表了生命多样性形式的一小部分。

尽管在很久以前我们人类已经能够对这个可见的世界进行分类，但是生命遗传的多样性却隐含于不可见的微生物世界。这些生物体常常不为人们所注意，除非它们的存在导致了疾病或是腐蚀了我们房屋的木材。然而在这个星球上，这些微生物构成了生物体总量的大部分。直到现在——通过对 DNA 序列的分析——我们开始看清地球上生命的图画，而不是被我们作为生活在陆地上的大型动物的偏颇的观点所歪曲的那样。

9.3 人类基因组的研究

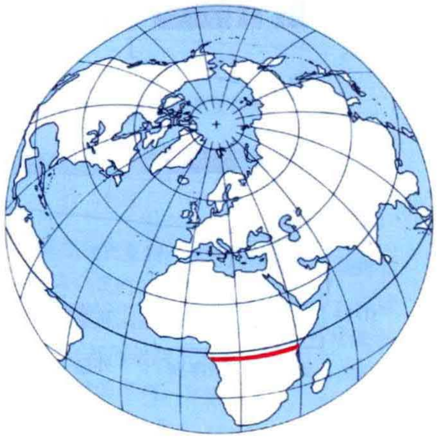
我们已经了解了基因组如何随着时间推移逐步改变的，对不同物种间基因组的比较又是如

何描绘出进化史上一些重要的事件。现在我们来关注一下我们自己的基因组，这将会为我们提供充足的信息告诉我们我们来自何处，我们是谁。

人类基因组——包含 3.2×10^9 个核苷酸对——分布在 22 个常染色体和 2 个性染色体上。人类基因组序列指的是在这 24 个染色体上的全部核苷酸序列。各种各样的人为人类基因组测序工程提供了人类 DNA，而由于每个个体之间平均 1000 个核苷酸中就有一个是不同的，所以已报道的人类基因组序列是很多个个体的序列的一个综合结果。它代表了我们作为一个物种所具有的统一性和多样性。

在其高峰期，人类基因组计划以全天候每秒确定 1000 个核苷酸的速度进展。这种情况下所提供信息的绝对数量是惊人的(图 9-27)。尽管等到所有数据全部被仔细分析还需要几十年的时间，但是从人类基因组序列中所得到的信息已经影响到本书的各个章节。在这部分内容中，我们来介绍人类基因组中最为突出的一些特点。

(A)



(B)

图 9-27 人类基因组可追溯我们的起源。假如每个核苷酸对之间的距离以 1 mm 表示，如图(A)所示的尺寸，那么人类整个基因组将达到 3200 km(大约 2000 英里)——足以横跨非洲中部，人类的发源地(图 B 中以红色线表示)。以这种比例计算，平均每 130 m 就有一个基因能够编码蛋白质的表达。其中一个基因平均跨越 30 m 的距离，而其编码序列加起来仅仅 1 米多。

9.3.1 人类基因组的核苷酸序列显示我们的基因是如何编排的

当 1999 年人类第 22 号染色体(人类最小的染色体之一)的序列被全部解码，人类首次能够确切认识脊椎动物染色体上基因的排布方式(图 9-28)。随着 2001 年整个人类基因组序列“初稿”的发表，以及之后 2004 年最终草图的完成，我们现在对人类所有染色体上的遗传信息已经尽收眼底(表 9-1)。

人类基因组的第一个惊人的特点是基因组中编码蛋白质、结构性 RNA 和催化性 RNA 的序列很少——仅仅只占总量的百分之几(图 9-29)。而几乎一半的剩余 DNA 序列是由转座子组成，在进化过程中统治着我们的基因组。由于转座子序列中累积着遗传突变，它们中的绝大多数已经不能再发生移动；然而，它们却为早期转座子在我们基因组中“猖獗流窜”提供了证据。

人类基因组第二个显著特点是基因的平均大小非常之大，大约包含 27 000 个核苷酸对。然而平均一个蛋白质仅仅由约 1300 个核苷酸对(大约 430 个氨基酸)进行编码。基因中大多数剩余 DNA 序列由大段内含子非编码序列构成(图 9-28D)，它们存在于相对较小的编码蛋白质的外显子之间。除了内含子和外显子，每个基因都伴随有一些调控 DNA 序列，以保证基因在合适的细胞和合适的时间表达合适的蛋白质量，在人类，它们常常遍布在成百上千个核苷酸序列中，其中有很多是“间隔”DNA 序列。

外显子和调控 DNA 序列所占的比例比整个人类基因组的 2%还少。而通过比较基因组学的研究，我们预计人类基因组的 5%在其他哺乳动物基因组中高度保守并且具有较为重要的功能(图 9-22)。我们现在还根本不知道其他 DNA 序列的功能。

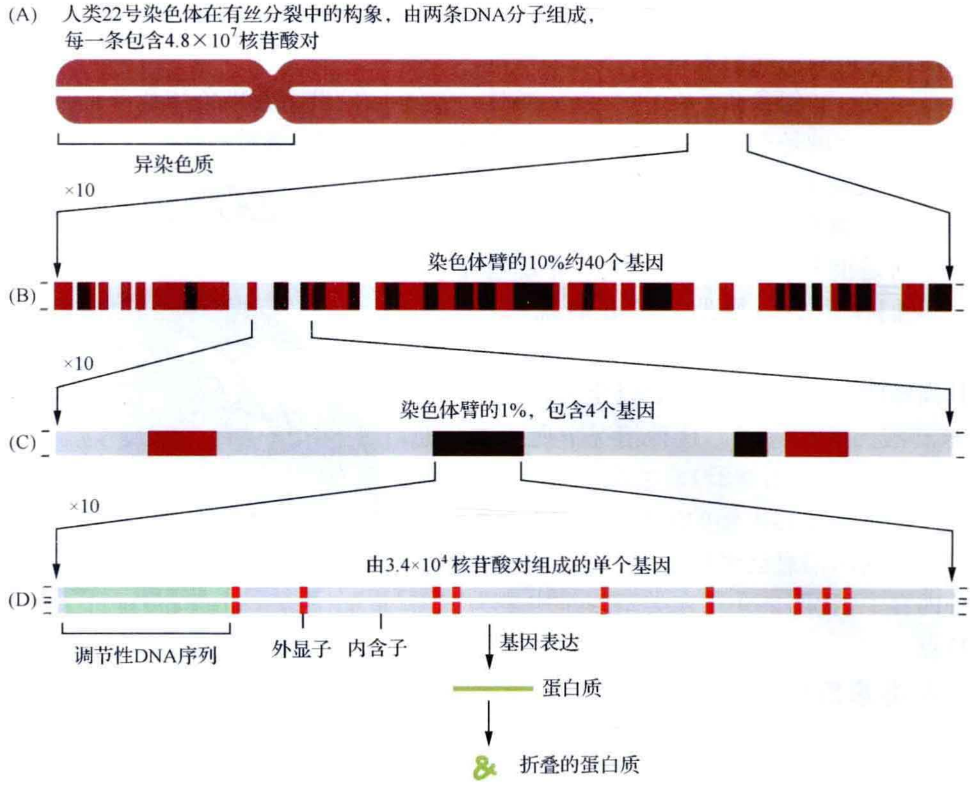


图 9-28 第 22 号染色体序列显示了人类染色体是如何被规划的。(A)第 22 号染色体，人类最小的染色体之一，包含 4.8×10^6 个核苷酸对，约占整个人类基因组的 1.5%。该染色体左臂的绝大部分由短的重复 DNA 序列构成，这些短重复序列被压缩在一个紧凑的染色体中(异染色质)，正如我们在第 5 章中所讨论的。(B)将第 22 号染色体的一部分扩大 10 倍，其中包含了大约 40 个基因。图中以暗棕色显示的是已知的基因，红色显示的是预测的基因。(C)是(B)图的进一步放大，可以完全显示其中的部分基因。(D)对其中一个代表基因再放大 10 倍可以清晰地显示出内含子和外显子的排列情况。每个外显子(红色)编码该蛋白质的一部分，而内含子(灰色)的 DNA 序列相对而言就没有那么重要了。(改编自国际人类基因组测序协会，*Nature* 409:860-921，2001。蒙 Macmillan Publisher Ltd. 惠许)

表 9-1 人类基因组的一些重要的数据

DNA 长度	3.2×10^9 个核苷酸对 *
基因数量	约为 25 000
最大的基因	2.4×10^6 个核苷酸对
平均基因大小	27 000 个核苷酸对
每个基因中最少包含的外显子数量	1
每个基因中最多包含的外显子数量	178
平均每个基因包含的外显子数量	10.4
最大的外显子大小	17 106 个核苷酸对
平均外显子大小	145 个核苷酸对
假基因的数量 **	大于 20 000
外显子 DNA 序列的比例(蛋白质编码序列)	1.5%
其他高度保守的 DNA 序列的比例 ***	3.5%
高拷贝可重复元件的 DNA 序列的比例	约为 50%

* 已经精确知道 28.5 亿个核苷酸对的序列(其错误率是 1/100 000)。剩下那部分 DNA 序列主要是一些高度重复的短 DNA 序列，这些 DNA 序列随机发生重复，在不同的个体中其重复数目是不同的。

** 假基因指的是一段 DNA 序列和另一个功能基因的序列十分相近，但是其中存在着大量的突变，导致这段序列无法正常表达。很多假基因来源于一个功能性基因的重复，在这个重复中随之积累了很多有害的变异。

*** 这些序列中也包含了 DNA 编码区 5′和 3′ UTR(mRNA 的非翻译区域)，编码结构 RNA 和催化 RNA 的基因，调控 DNA 序列及功能未知的保守区域。

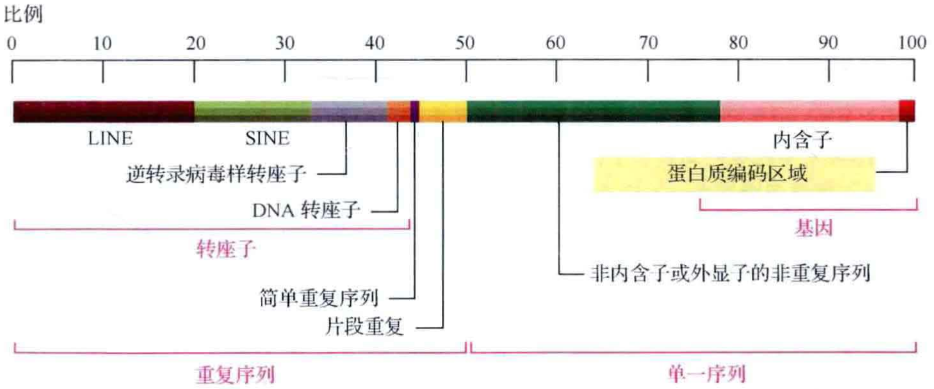


图 9-29 **人类基因组的绝大部分由非编码核苷酸序列及重复核苷酸序列构成。**通过自我复制和在不同位置插入新拷贝的方式，LINE、SINE、逆转录病毒样转座子和 DNA 转座子这些可移动遗传因子可以在我们的基因组中成倍增加。在第 6 章中我们曾经对其进行讨论。简单重复序列是由一些短核苷酸序列（小于 14 个核苷酸对）通过一次又一次重复而形成的较长的序列。片段重复指一大段基因组序列（1000～200 000 个核苷酸对）出现在基因组两个或多个位置上。基因组上非内含子或外显子的单一序列（暗绿色）包括基因调控序列以及其他一些未知功能的序列。异染色质上一些 DNA 高度重复序列尚未被完全测序；因此大约 10%的人类 DNA 序列在此图中未被表示出来。（蒙 E. H. Margulies 惠许）

相对较小的基因数量是人类基因组的另一个较为惊人的特点。早期人们预测人类基因组的基因数量大约是 100 000（见我们如何得知）。尽管确切的数量现在还未确定，但是现在修正过的人类基因数量是 25 000 个，这就使得我们人类的基因数量更接近于一些简单多细胞动物，如果蝇（14 000）和线虫（19 000）。

最后，人类基因组的核苷酸序列显示其所携带的关键遗传信息处于一种令人震惊的混乱状态。一位评论员是这么描述我们的基因组的："有时候它像是我们的车库/卧室/冰箱/生活：高度个性化，而又杂乱；没有组织性；像是累积在一起的杂物（门外汉称之为'垃圾'）；其中少数有价值的东西随意而又明显不慎地到处乱放。"

我们如何得知：基因数目

人类有多少个基因呢？这是我们很自然想知道的一件事。酵母有 6000 个基因，果蝇有 14 000 个，那么有多少个基因用于编码人类这种复杂的、富有好奇心和智慧来研究其自身基因组的生物体呢？当研究者完成人类基因组序列初稿的时候，最普遍的一种预测是人类有约 100 000 个基因。但是那个数字是怎么来的？为什么修正后预测人类只有 25 000 个基因呢？

Walter Gilbert 是一名物理学家出身的生物学家，由于发明了 DNA 测序技术而获得诺贝尔奖，他是第一个对人类基因数目得出粗略估计的人。在 20 世纪 80 年代中期，Gilbert根据当时一些少数已知的人类基因的平均大小（约 3×10^4 个核苷酸对）和整个基因组的大小（3×10^9 个核苷酸对）估计人类约有 100 000 个基因。这种粗略的计算最终得出一个令人满意的整数，使得它在文章和教科书中被广泛引用。

这种计算能够帮助我们预测人类原则上所包含的基因数目，但是还不足以回答我们人类实际上有多少基因这一问题。事实证明，即便我们有了完整的人类全基因组序列，这也不是一个容易解决的问题，其问题在于我们如何来界定一个基因？我们在第 5 章中曾经讨论过，基因是一个 DNA 序列能够决定一个细胞或是生物体特征的区域，往往编码一个蛋白质或是一个功能型 RNA。现在我们知道人类基因组中这类编码序列只占百分之几。因此当面前放着一段原始的 DNA 序列——一串由 A、T、G、C 所构成的随机字符——我们如何能够区分其中哪些是基因，哪些是"垃圾 DNA"？我们需要一种能够准确可靠地从基因组中区分编码序列和非编码序列的方法，才能对基因进行定位和计算。

通常在原核生物和诸如酵母这样的简单真核生物中情况往往是最简单的。在这些生物体的基因组中，我们通过在整个DNA序列中寻找**可读框**(ORF)来确定其中的基因。这些序列往往比较长——包含约100个密码子或更多，其中不包含终止密码子。一段随机的DNA序列每20个密码子中会随机包含一个终止密码子(因为在64个密码子中存在3个终止密码子)。因此寻找ORF——一段编码超过100个氨基酸的连续核苷酸序列——是寻找潜在基因的第一步。目前人们可以利用计算机程序来进行寻找，这种ORF的开始是一个起始密码子，常常是ATG，最后以终止密码子TAA、TAG或TGA结束(图9-30)。

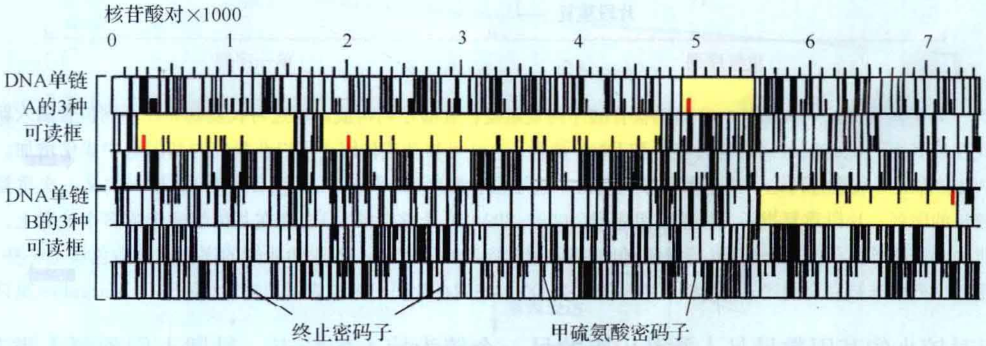


图9-30 计算机程序用于寻找基因。在本例中，人们将一段来源于致病性酵母菌 *Candida albican* 的包含7500个核苷酸对的DNA序列输入计算机程序，这段序列随后就被翻译成6种可能的可读框(ORF)，其中3种由正义链翻译得到，3种由反义链翻译得到(图7-25)。在输出的结果中，每一条可读框以横栏显示，终止密码子(TGA、TAA和TAG)用较长的垂直竖线标注，而蛋氨酸密码子(ATG)以短线标注。有4个可读框(黄色)由于明显缺少终止密码子又被清楚地识别。每个可读框潜在的起始密码子(ATG)以红色标注。可读框中的其他ATG密码子编码甲硫氨酸。

在动物和植物中，由于存在大的内含子打断基因的编码区，这使得我们识别ORF的过程变得复杂。正如我们所见到的，这些内含子序列一般比外显子大很多，而外显子实际上仅占了基因的很小一部分。对于人类DNA，外显子有时候仅由50个密码子构成(150个核苷酸对)，然而其内含子可能超过10 000个核苷酸对的长度。50个密码子太短以致很难产生一个统计学上有显著意义的“ORF信号”，就像在50个随机密码子中没有终止密码子的存在也是很正常的。此外，由于内含子比较长，因而也有可能碰巧包含不少带有“ORF噪声”的序列，即缺少终止密码子的延伸序列。在这个信息的海洋中，这类噪声往往淹没了真实的信号，这就让寻找真正的ORF变得困难重重。因此在真核生物中就需要通过基因的其他独特的特点来识别ORF。例如，内含子-外显子边界处的剪接序列信号(图7-19)或是位于基因上游特有的DNA调节序列。

然而最为有力的用于识别基因的方法是通过与其他生物体中的基因来进行同源性比对。例如，一段很短的ORF，如果其编码的氨基酸序列和另外一个物种的一个已知的蛋白质相吻合，这段ORF就很可能是一个外显子。此外，如果一段假设的ORF在不同物种中高度保守，那么它很有可能编码了一个蛋白质，尽管包含这段ORF的基因尚未被识别或研究(图9-22)。这种比较(如人类与小鼠与斑马鱼)使得我们能够对一些未知功能的短ORF进行识别，进一步可以将它们拼接为整个基因。

1992年，研究人员运用一个计算机程序在人类基因组序列初步数据中对蛋白质编码区域进行预测。他们在人类第4号染色体一个含有58 000个核苷酸对的片段中找到2个基因，在第19号染色体一个含有106 000个核苷酸对的片段中找到5个基因。根据这两个数据推测人类每23 000个核苷酸对中包含一个基因。由此外推，整个基因组将包含130 000个基因。然而，研究人员用来进行预测的这几条染色体通过精确的序列分析发现它们恰好是富含基因的。当对人类基因组上含有较少基因的区域进行分析——估计人类基因组一半区域的基因密度大约是基因密集区的1/10——预测的基因数就只有71 000个基因了。

匹配标签

当然，所有这些预测都是以我们想象中基因的状态作为依据的，而我们现在依然在探究如何识别基因。一个不同但又互补的计算基因组中编码区域的方法是通过实验来检测究竟有多少基因被表达了。

为了能够在一种特定的细胞或组织中检测编码蛋白质基因的表达，首先需要将 mRNA 进行抽提，继而转变为与之序列互补的 DNA，或称为 cDNA(在第 10 章中有讨论)。由于 mRNA 是编码蛋白质的基因经过转录和剪接而得到的，由此得到的 cDNA 包含了制备此 mRNA 的细胞内所有正在表达的基因的序列。由于不同的组织往往表达不同的基因，而我们的目标是识别每一个基因，因此这种 cDNA 是从多种组织中制备得到的。研究 cDNA 的一个另外的优势是来源于 mRNA 的 cDNA 不包含内含子和位于基因之间的 DNA 序列，cDNA 直接对应于基因组的编码序列。

这些被称为是表达序列标签或是 EST 的 cDNA 短片段随后被测序，最终测序得到的结果与全基因组核苷酸序列进行对比，从而对每个 EST 所对应的基因进行定位。通过将 EST 仔细地定位到人类基因组，目前研究人员预测人类基因组中编码蛋白质的基因大约有 24 000 个。

人类基因倒计时

目前预测基因最为精准的方法是将不同类型的数据综合起来，包括①EST 分析，②通过计算机程序在全基因组中搜寻 ORF 和外显子末端剪接标志性序列，③和其他生物体基因组的对比，特别是和其他哺乳动物基因组序列进行对比。其中最后一个方法最为有效，那是因为，正如我们在本章所提到的，哺乳动物基因组的序列具有高度多样性，只有它们基因组中最为重要的那部分序列——如外显子和调节性序列——是相似的(图 9-22)。

尽管所有预测最后都认为人类基因组包含了 24 000～25 000 个基因，但是对于究竟要多少基因来构成一个人，我们还需要很多年的时间才能得到最终的确切答案。例如，一些编码小 RNA 的基因(如 microRNA)的识别就显得相当困难。只有随着计算机技术的应用，随着我们在人类和其他生物体基因组序列中得到越来越多的数据，我们在一段特定 DNA 序列中预测基因位置的能力才能不断进步。但是，了解每个基因的功能及其和其他基因的交互关系比知道基因的确切数目显得更为重要。直到下世纪这些仍是生物学家所关心的中心问题。

9.3.2 保守基因组序列的加速改变帮助我们揭示我们之所以为人类

随着人类和黑猩猩基因组序列的破译，研究人员开始从中寻找导致这两个物种间存在如此显著差异的 DNA 序列变化。这是个看起来不可能的任务，因为这两个物种间有 30 亿个核苷酸对序列需要进行比较。但是由于在不同哺乳动物中保守性都很强的 DNA 序列往往具有重要的基因功能，因此如果将重点放在比较这样的保守序列上(图 9-22)，这项工作就被简化了。这些序列尽管是保守的，它们也不完全相同：当一个物种的保守序列与另一个的版本进行对比时，往往会发现这两者之间会有一些微小的差异，这些差异是自这两个物种从它们最近的共有祖先分离以后的这段时间中产生的。但是在小部分这类例子中，人们发现了一些突然的进化冲刺迹象。例如，有的 DNA 序列在其他哺乳动物中是高度保守的，然而在人类进化史上和黑猩猩发生物种分离的这 600 万年里，这些序列极快速地改变了。这些人类加速转变区域被认为具有重要的功能，这些功能使得我们能够区别于其他的生物体。

在一项研究中发现 50 个这样的位点——其中 1/4 位于和神经发育相关的基因附近。人们对这段展现出最快变化的序列(在人类和黑猩猩之间存在 18 个改变，而在黑猩猩和鸡之间只有 2 个改变)进行了进一步研究，结果发现这段序列能够编码一个非编码短 RNA，在人类大脑皮层神经发育的一个关键时刻表达。虽然该 RNA 的功能尚且未知，但是这个惊人的发现鼓励人们对人的大脑进行进一步的研究，希望从中可以找到人脑中将我们区别于其他近亲物种的一些

特征。

9.3.3 人类基因组的遗传变异有利于我们的个性发展

除了同卵双胞胎，没有两个人的基因组是完全相同的。当两个人基因组相同区域的序列进行比对时，这些核苷酸序列约有 0.1%是有差异的。这种程度的变异并不显著，然而考虑到基因组的庞大，这使得这两个个体的每个父系或母系染色体都有 300 万个基因变异。通过对人类遗传变异进行更为详尽的分析，人们发现大部分这种变异在我们进化早期人口数量较少的时候，大约 100 000 年以前，就已经存在。这意味着我们今天很多这样的遗传变异都是从我们人类祖先那里继承而来的。

人类基因组中的多数遗传变异是单个碱基发生变化，称为**单核苷酸多态性**(SNP，发音为 snip)。这种多态性在基因组上只是一些简单的点，标记了两部分人群在核苷酸序列上的差异——例如，在某位点上，一部分人群带有 G-C 核苷酸对，而另一部分带有 A-T 核苷酸对(图 9-31)。从世界上随机选取任何两个人的基因组进行比对，大约有 2.5×10^6 个 SNP 遍布于整个基因组。由于这种 SNP 具有很高的密度，它们俨然已经成为遗传分析的一种标记，人们可以将这种 SNP 和某个特定的性状(如疾病易感性)联系起来(正如第 19 章所讨论的)。这种类型的分析研究可以改进对疾病的治疗，帮助医生在病状产生之前判定患者对某个疾病(如心脏病)的易感程度，这样，患者可以在生病之前通过改变其日常行为对疾病进行预防。

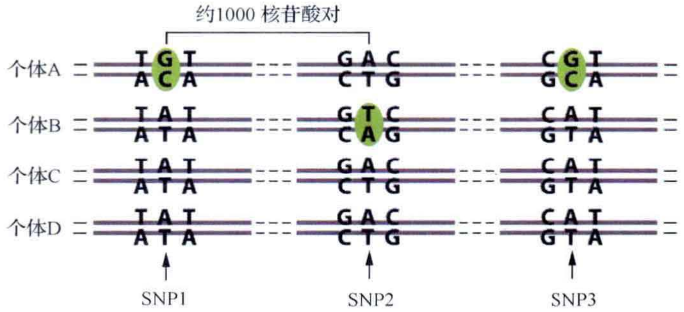


图 9-31 单核苷酸多态性(SNP)是存在两部分人群基因组中的单个核苷酸对有差异的序列。人类基因组上大部分(但不是全部)这类变异并不影响基因的功能。

我们从祖先那里得到遗传变异的另一个重要的途径是大块 DNA 序列的重复和缺失。任何人的基因组序列和标准参考序列进行比对，结果都会发现约有 100 个变异涉及长模块序列。其中有的变异比较常见，有的则仅仅存在于小部分人群中。从最初的抽样结果显示，这些序列中有一半包含了已知基因。回顾以往我们在脊椎动物基因组中所讨论的 DNA 添加和缺失，其实这种变异并不罕见。然而它们究竟如何成就了我们的个性发展仍旧是一个谜。

除了 SNP 及我们从祖先那里获得的序列重复和缺失，人类基因组中的重复核苷酸序列特别有可能产生新的变异。例如，CA 重复子遍布在在人类基因组中。带有很多 CA 重复子的核苷酸序列在复制时常常会出现差错(想象复制一个只包含一串 CACACACACACACACA…而没有其他字母的单词)；因此两个个体之间这种重复子的重复数目能够发生很大的差异。由于这种重复子表现出如此不寻常的可变性，而这种可变性又发生在近期，因此 CA 重复子及其他与之类似的重复子已经成为人类个体间差异的一种理想的标记。基因组不同位置上这类 CA 或其他类型重复子在重复数目上的差异可以通过 DNA 指纹技术被用于犯罪调查、亲子鉴定及其他法医领域。

人类基因组中很多变异由于发生在基因组上的非关键区域，因而是遗传上沉默的。这类变异不影响我们细胞的功能，也不影响我们的外观。这意味着我们观察到的变异中只有小部分和人与人之间的可遗传的差异有关。正如我们在第 19 章所讨论的，人类遗传学的一个重大的挑

战是认识这种微小的变异在中性变异这个大背景下是有重要功能的。

9.3.4 人类基因组包含的丰富信息尚未被破译

即便手上握有人类基因组的全部序列，下个世纪还有很多问题将挑战细胞生物学家。也许其中最为困扰的问题是：既然人类、黑猩猩和小鼠包含相同的基因，由此包含相同的蛋白质，那么是什么使得它们之间具有如此大的差异呢？

这个问题的答案有很大一部分将来源于我们对基因调节的研究上。由基因组编码产生的蛋白质就好比是一个建筑工具盒。在这个工具盒中，通过不同的方式和顺序将其中的组分进行组合，能够用于生产很多不同的东西。当然，最终对象的整体造型则取决于将这些组件放在一起的指令。

从大的范围来看，用于构建一个多细胞动物所必需的指令包含在每个基因附近的非编码调控 DNA 序列中。正如第 8 章所讨论的，基因 DNA 带有很多散布其内的调节元件——为特定转录调节因子结合提供结合位点的短 DNA 片段。这种调控序列具有决定生物体有序发育过程的能力：包括细胞增殖过程所遵循的准则、决定细胞在胚胎中的位置及相应开启表达一套新的基因。

尽管对不同物种进行序列比对是一种从众多过剩的非重要 DNA 中寻找调节序列的较为有用的方法，但我们仍旧不知道如何正确解读这些序列。例如，不同的转录调节因子可以和同一小段 DNA 结合，因此仅仅解读了 DNA 调控序列并不足以确定是哪个或哪些蛋白质对该基因进行了调节。此外，基因表达的调控往往以复杂的组合方式进行，这就使我们想要解密基因的表达发生在发育哪个阶段及哪些类型的细胞中变得更为复杂。

破译人类基因组编码信息的另外一个挑战来自于基因的可变剪接。我们知道很多基因能够发生可变剪接，这使得同一个基因能够产生一系列相关而又不同的蛋白质（图 7-21）。这种可变剪接往往是可调控的，因此在某种类型的组织中表达其中一种类型的蛋白质，而其他类型的蛋白质形式则在别的组织中表达。在果蝇中有一个极端的例子，通过可变剪接，单个基因可以产生 38 000 个不同的蛋白质（图 9-32）。因此生物体能够产生远多于其基因个数的蛋白质产物。对于这种可变剪接的生物学我们现在了解的还不多，尚不足以准确地预测哪些人类基因要经历这一过程及在哪个发育阶段和部位发生了这样的调节，但是这种可变剪接似乎在脑发育过程中特别普遍。

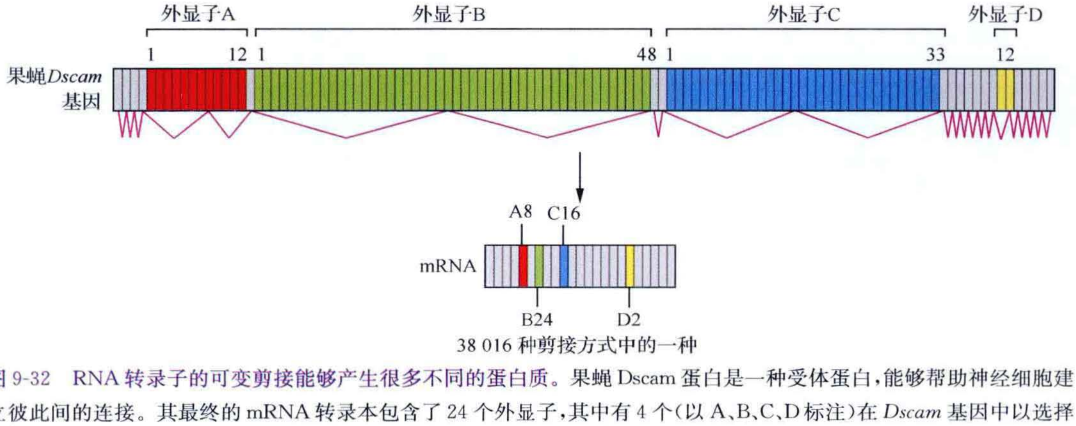


图 9-32 RNA 转录子的可变剪接能够产生很多不同的蛋白质。果蝇 Dscam 蛋白是一种受体蛋白，能够帮助神经细胞建立彼此间的连接。其最终的 mRNA 转录本包含了 24 个外显子，其中有 4 个（以 A、B、C、D 标注）在 *Dscam* 基因中以选择性剪接方式的形式存在。每个成熟 mRNA 对于外显子 A 含有其 12 种可变剪接中的一种方式（红色），48 种 B 可变剪接的一种（绿色），33 种 C 可变剪接的一种（蓝色），2 种 D 可变剪接的一种（黄色），以及 19 个不变的外显子（灰色）。如果所有可能的剪接组合都发生，理论上 *Dscam* 基因将会产生 38 016 种不同的蛋白质。图中只显示了一种剪接方式（以品红色直线标示）及由此产生的成熟 mRNA。（改编自 D. L. Black, *Cell* 103:367-370, 2000。蒙 Elsevier 惠许）

破译人类基因组密码的另一个不确定因素是 microRNA 的确切功能。最近发现这些小 RNA 能够对人类 1/3 的基因进行调节，但是只有其中的一部分进行了研究。最后，尽管预计人类基因组 1.5%的序列能够编码蛋白质，在和其他生物体基因组进行比对时发现另外有 3.5% 序列具有高度的保守性——因此被推定具有重要的功能。这些保守序列中有的编码一些已知功能的 RNA 分子，有的是调节 DNA；而剩下一些的功能还是一个谜。

人类的身体是细胞在发育的增殖和分化过程中所做出的一连串决定的结果：哪些 RNA 分子和蛋白质在哪里能够被表达，及其表达的确切时间和表达量。做出这些决断的所有信息都包含在人类基因组序列中，然而我们现在才刚刚开始去认识如何破译这些信息，这将是下一代细胞生物学家所面临的一个巨大的挑战。

基本概念

- 通过对现代生物体间核苷酸或氨基酸序列进行比对，我们现在开始重现从第一个细胞开始至今数十亿年间基因组的进化过程。
- 遗传变异——进化变异得以产生的原料——产生的机制有很多，最后导致基因组核苷酸的改变。这种改变的范围从单点核苷酸突变到大规模 DNA 序列的重复和重排。
- 导致生物体选择优势或是选择中性的遗传变异将会被延续。而那些严重影响生物体健康的变异将被自然选择所淘汰。
- 基因重复是遗传多样性产生的重要方式之一。一旦基因重复得以发生，这两个拷贝基因能够积累不同的突变而发生特化，从而行使不同的功能。在进化的历史长河中，多轮基因重复和分离的发生产生了大的基因家族。
- 基因间外显子交换能够创造出具有新功能的杂合蛋白，这极大地推动了新蛋白的产生和进化。
- 人类基因组包含 3.2×10^9 个核苷酸对，分布于 22 个常染色体和 2 个性染色体上。其中编码蛋白质或结构 RNA、调节 RNA 和催化 RNA 的 DNA 序列仅占基因组的百分之几。
- 人类的两个不同个体间每 1000 个核苷酸对中平均有 1 个是不同的；这种差异塑造了人类的个性化特征，也为依靠 DNA 序列分析识别个体提供了基础。
- 比对不同物种间的基因组序列是我们识别基因或找出基因组中其他功能性区域的一种有力的方法。
- 由于相关物种(如人类和小鼠)具有很多共同的基因，因此能对这些基因的调节产生影响的那些进化变异对于我们认识这些物种间的差异具有重要的意义。

关键词

保存下来的相似性	分离	可读框(ORF)	水平基因转移	外显子混编
单核苷酸多态性(SNP)	基因重复和分离	生殖系	体细胞	系统发生树
点突变	净化选择	生殖细胞	同源基因	

问题

问题 9-1 本章中我们论证了遗传性变异对物种是有益的，因为它增强了该物种适应变化情况的能力。那么为什么细胞又要如此费力地保证 DNA 复制的精确性呢?

问题 9-2 为什么认为水平基因转移在单细胞生物体中比在多细胞生物体中更为普遍?

问题 9-3 像编码核糖体 RNA 的那种高度保守的基因在地球上所有生物体之中以于清晰可辨的亲缘形式存在；它们随着时间的推移而慢慢地发生着进化。这些基因“生来”就是完美的吗?

问题 9-4 像 *Alu* 序列那样的可移动遗传因子，在人类 DNA 序列中发现存在很多拷贝。这种 *Alu* 序列是

如何影响其附近的基因的？

问题 9-5 假设你正致力于研究小鼠基因组中某个特定基因的功能。你已经知道了该基因的序列，确定了其中编码蛋白质的那部分 DNA，并且搜索了相似序列的相关数据库；但是该基因及其所编码的蛋白质在以往所有的发现中都没有找到与之相类似的。那么还有什么其他关于这个基因或蛋白质的信息可以帮助你确定其功能，为什么？注意，请将重点关注在你想要得到的信息上，而不是通过什么技术手段来获取你所要的信息。

问题 9-6 讨论如下陈述："转座子是一种寄生虫。其对于宿主是有害的，并因此使之处于进化上不利的地位。"

问题 9-7 人类 22 号染色体上（约为 48 Mb）存在约 700 个编码蛋白质的基因，平均一个基因的长度是 19 000个核苷酸对，包含 5.4 个外显子，每个外显子平均占据 266 个核苷酸对。这种蛋白质编码基因中转录成 mRNA 的序列占了多少比例？这些基因在染色体上又占了多少比例？

问题 9-8 （判断）人类 DNA 序列的巨大多数是无关痛痒的垃圾 DNA。并解释你的理由。

问题 9-9 转座子占据了人类基因组近乎一半的序列，它们以随机插入的方式遍布在整个基因组中。然而在某些位点上，这类遗传因子很少，如位于人类 2 号染色体上的 HoxD 基因簇（图 Q9-9）。这个基因簇大约有 100 kb，包含 9 个基因，在胚胎发育过程中这些基因在前后轴方向的差异表达有利于建立人及其他动物的基本身体构造。你认为在这个基因簇中很少存在转座子的原因是什么？在图 Q9-9 中，向上的直线表示已知基因的外显子。向下的直线表示转座子。转座子在 HoxD 基因簇以外数量之多几乎将线条合并形成了一个固体块。我们以第 22 号染色体相应位置作为对比。

图 Q9-9

问题 9-10 早期一种比对核苷酸序列的方法——对角划分——现在仍旧是序列相关性最佳视觉对比的方法之一。图 Q9-10 中列举的例子中利用这种方法对人的 β-珠蛋白基因和该基因的 cDNA 序列（只包含了基因的编码序列；图 Q9-10A）及小鼠 β-珠蛋白基因序列进行了比对（图 Q9-10B）。对角划分的方法比较的是一些序列单元，这里每次以 11 个核苷酸为一个单元。如果 9 个以上核苷酸比对一致，那么在图表中相应的单元的坐标上画上一个点作为标记。把每一个可能存在的单元都进行对比和标记以后，就诞生了如图 Q9-10 中所示的图表，而其中序列的相似程度可以在对角线上显现出来。

A. 通过人的 β-珠蛋白基因序列和 cDNA 序列的比对（图 Q9-10A），你能推断出 β-珠蛋白基因序列上外显子和内含子的位置吗？

B. 人 β-珠蛋白基因的外显子（图 Q9-10B 中以阴影表示）和小鼠 β-珠蛋白基因序列是否相似？辨别和简述其中的重要差别。

C. 人类和小鼠的 β-珠蛋白基因序列在外显子以外的其他位置是否相似？如果相似，请找出其位置，并为进化过程中的这种保守性提出一个合理的解释。

D. 在人类和小鼠进化分离的过程中，该基因的内含子的长度是否也发生了改变？为什么？

问题 9-11 你的导师，一名卓越的生物信息学家，十分欣赏你的智慧和你的勤奋。她建议你设计一个计算机程序，该程序能够直接从人类基因组序列中找到蛋白质编码基因的外显子。在这项工作的前期，你打算先写下一系列蛋白质编码序列的特征，以此区分于内含子序列和基因组上的其他序列。你将会列出哪些特征呢？（参考第 7 章中有关基因表达基本方面的内容。）

问题 9-12 为什么你认为每 20 个密码子或一段随机的 DNA 序列中有望出现一个终止密码子？

问题 9-13 遗传密码（图 7-24）将 mRNA 的核苷酸序列和编码蛋白质的氨基酸序列联系起来。自从该密码被破译以来，有人宣称这是一种冻结了的事故——也就是说，该系统随机发生在某些生物体祖先的身上，随

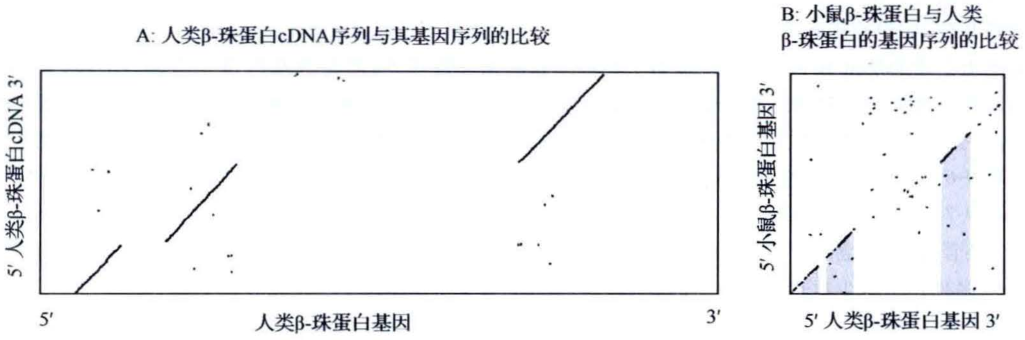


图 Q9-10

后在进化过程中不变地延续下来;但也有人争辩说密码子的产生是自然选择的结果。

遗传密码的一个突出的特点是它固有的抗突变性质。例如,密码子第 3 位碱基的改变往往导致其编码的还是原来的氨基酸或是一个具有相似化学性质的氨基酸。然而这种天然密码子是否比其他形式更能抵抗突变呢? 从图 Q9-13 显示,答案是一个很有力的“是”。通过计算机产生“随机”每 10 000 个密码子中仅有一例的抗突变能力强于天然密码子系统。

那么你认为实际遗传密码的抗突变能力是来源于冻结性的事故还是自然选择呢? 请给出理由。

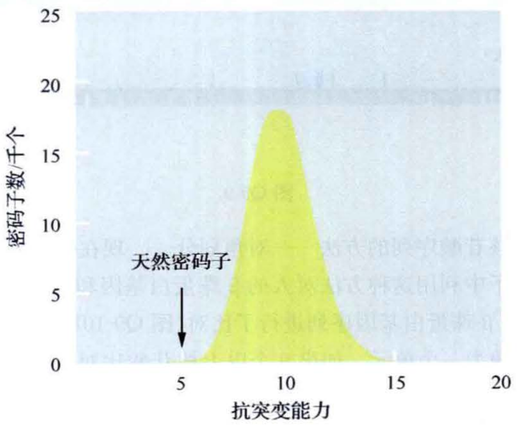


图 Q9-13

问题 9-14 下面列举的几个选项中哪些对于新蛋白质编码基因的进化作用不大?

A. 基因重复产生额外的拷贝基因,从而有利于其获得新的功能。

B. 从基因组非编码 DNA 序列中从头开始形成新的基因。

C. 不同物种细胞间基因的水平转移。

D. 现有基因突变导致产生新的功能。

E. 基因重排导致蛋白质结构域的混编。

问题 9-15

基因	氨基酸/个	突变率/%	
		非同义突变率/%	同义突变率/%
组蛋白 H3	135	0.0	4.5
α-血红蛋白	141	0.6	4.4
γ-干扰素	136	3.1	4.3

有的基因的进化速度比其他基因快。然而这种现象是如何被展现的呢? 一种方法是比较相同两个物种间

的基因，如在上表中所对比的大鼠和人类基因。表中显示的是核苷酸替换比例的两次比对结果。非同义突变指的是DNA序列中导致氨基酸变化的单核苷酸突变(例如，ATC→TTC的变化导致原先编码的异亮氨酸转变为苯丙氨酸)。同义突变指的是DNA序列上的突变不导致编码氨基酸的变化。例如，ATC→ATT，这两个密码子编码的都是异亮氨酸。(很明显从图7-24中看出，很多情况下同一种氨基酸可以由不同的密码子进行编码。)

A. 为什么在核苷酸替代比例上同义突变和非同义突变之间的差别如此之大？

B. 这3个基因同义突变的比例基本相同，而对于组蛋白H3基因而言，它为何能够如此有效地抵抗那些能够改变其氨基酸序列的核苷酸变异呢？

C. 大体而言，蛋白质的保守性还是比较高的，因为编码它的基因在基因组上处于一种低突变的"特权"位置。表中所示的哪个特征说明组蛋白H3并不是如此的？

问题 9-16 植物血红蛋白最初是在豆科植物中被发现，它们的主要功能是在根瘤部位降低氧浓度，从而促进寄居细菌进行固氮作用。这些血红蛋白使根瘤带有一种特征性的粉红色。这一发现一开始令人十分震惊，因为科学家们一直认为血红蛋白只存在于动物血液。有种假设认为植物血红蛋白是通过基因水平转移从动物中获得的。我们现在已经从很多生物体中得到了这类血红蛋白基因的序列，在图Q9-16中显示了这种血红蛋白的进化树。

A. 进化树上所显示的信息是支持还是反驳植物血红蛋白基因水平转移的假说？

B. 假设植物血红蛋白基因来源于基因的水平转移(如寄生线虫)；你认为这种进化树该如何绘制？

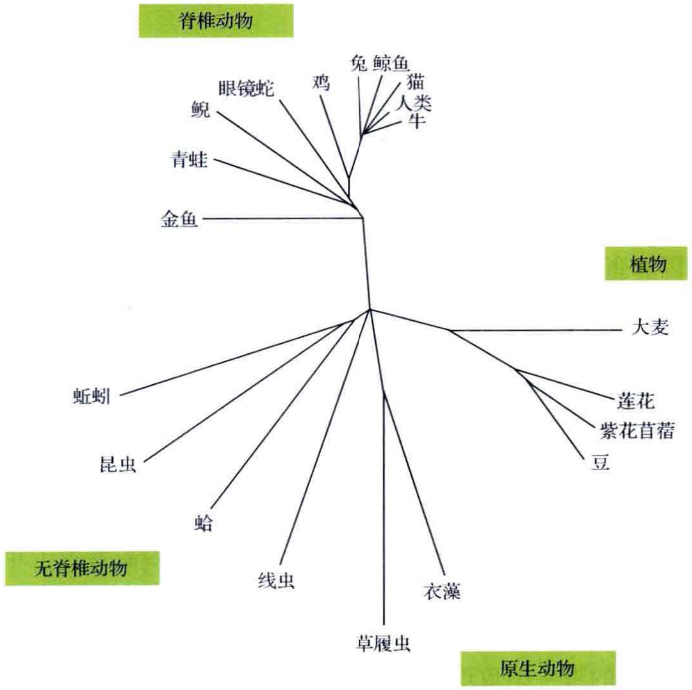
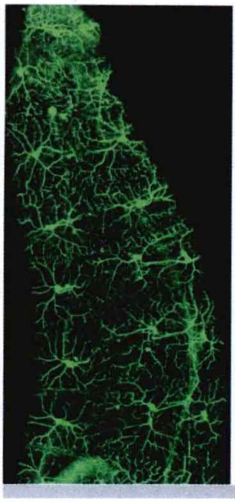


图 Q9-16

问题 9-17 人类生殖细胞系每次细胞分裂过程中平均每600万个核苷酸中存在0.6个差错。由于我们的绝大部分DNA序列并不受到任何精确的约束，因而很多这类变异都是选择中性的。随机选出的两个现代人类个体之间平均每1000个核苷酸中就有一个是不同的。假设我们都起源于同一对原始祖先——亚当和夏娃——他们在遗传上是相同的，也是纯合的(同源染色体之间都是相同的)。假设所有生殖细胞系的突变在后代中都得以保留，那么从亚当和夏娃时代开始到现在，细胞需要经历多少代才能产生今天我们基因组中千分之一核苷酸的变异呢？假设每一个人类世代平均对应于生殖细胞系200次细胞分裂周期，平均经历30年的时间，那么从他们两人开始到现在过了多少年？

(费 聪 译)



10 基因及基因组分析

10.1 操纵及分析DNA分子
10.2 DNA克隆技术
10.3 探索解密遗传信息

21世纪注定会是激动人心的细胞生物学的时代。对DNA、RNA和蛋白质进行分析和操作的新方法为信息的探索提供了动力,使我们能够以前所未有的方式研究基因和细胞。我们现在可以存取访问数十亿的核苷酸序列,它们提供了数十种生物的分子蓝图,从微生物和植物到鸟类、昆虫、人类及其他哺乳动物。而强大的新技术正在帮助我们解码这些信息,让我们不仅能够编纂这本关于基因和蛋白质的,信息量巨大而且内容翔实的"天书",而且可以开始解密这些元件是如何一起组成有功能的细胞、组织和生物体。而我们的目标就是完全理解所有生命体中每个瞬间发生的过程。

这种技术革命很大程度上归功于那些显著增强我们对DNA操作能力的方法的建立。在20世纪70年代,我们第一次能够从一条染色体中的几百万对碱基中分离出特定的DNA片段。而反过来这项技术也使得在试管中制造新的DNA分子,然后将这种定制的遗传材料引入生物体成为可能。这种称为**重组DNA技术**或者遗传工程的发展,使得我们可以创造一条染色体,它含有在自然状态下不可能形成的基因组合,或者理论上这些基因需要数千年的小概率事件才会连接在一起。

尽管当时没有意识到,早在数千年前人类就开始了对DNA的实验。例如,现在的花园玫瑰变种,就是中国和欧洲的野生型玫瑰经过数个世纪选择培育的结果(图10-1A)。同样地,不同种类的狗之间繁多的性状如大小、颜色、外形甚至行为都是精心的遗传实验的结果,这种对所需性状的选择从10 000～15 000年前的第一只灰狼,也就是现代狗的祖先被驯养时就开始了(图10-1B)。

现代遗传工程技术使我们能够对DNA进行更精确和快速的操作。应用最新的设备和技术,即使一个初学者也可以采集生物体的遗传材料,分离出含有特定基因的DNA序列,并且能够获得该DNA的几乎无限份的精确拷贝,相对容易地确定其核苷酸顺序。而将这些技术稍加改变,分离出的基因在实验室中就可以进行重新设计并转染回培养的细胞中分析其功能。而应用更精巧的技术,这些改造过的基因片段可以插入到动物或者植物的基因组中,成为生物体中具有功能的可以遗传的一部分。

(A)

(B)

图 10-1　人类对 DNA 的操作已经进行了千年。(A)已知的西方艺术中最古老的关于玫瑰的绘画，来自公元 2000 年前克里特岛上的克诺索斯宫殿。现在的玫瑰就是这些野生玫瑰经过几个世纪繁育的结果。(B)一只哈巴狗和一只狮子狗说明了狗之间的繁育。所有的狗不管品种如何都属于一个物种。(B 图蒙 Heather Angel 惠许)

这些技术上的突破已经极大地影响了细胞生物学的各个方面。它们不仅让我们了解了真核生物复杂基因组的组织及进化历史(见第 9 章的讨论)，而且让我们发现了全新种类的基因，RNA 及蛋白质。这些技术为阐释蛋白质及蛋白质中某一个特定结构域的功能，揭示它们之间未知的关系提供了新的方法。而且为生物学家提供了一组重要的工具，去探索完整的动物或者植物体是如何从单个细胞发育而来的机制。

在科学研究之外，重组 DNA 技术对人类生活也产生了深远的影响：检测导致遗传疾病的 DNA 突变，诊断个体对诸如癌症等遗传疾病的易感性；在法医学中用于指证或者确认犯罪嫌疑人；日益增多的医学药剂，包括治疗糖尿病的胰岛素和血友病的凝血蛋白因子Ⅷ。即使是我们的洗衣粉也是 DNA 重组技术的产物，它包括了热稳定性的蛋白酶，可以去除食物残留和血渍。在本书中所描述的所有的发现中，那些促进了 DNA 重组技术发展的部分对我们的日常生活产生了巨大的影响。

在本章中我们将要描述的是最常见的基因操作及功能研究的方法。我们将从一些基本的 DNA 分析技术方法开始，逐渐揭开革命性的 DNA 重组技术的核心。接下来我们会探讨如何通过 **DNA 克隆技术**和**聚合酶链反应(PCR)**分离产生大量的 DNA 拷贝，以及如何利用这些序列产生蛋白质并用来分析其功能的。在本章的最后一节，我们将会了解到如何利用这些 DNA 技术来研究细胞及生物体中基因和蛋白质的功能。总之，这些技术成就了我们今天对生物学的理解，也包括在本书中提到的很多知识。

10.1　操纵及分析 DNA 分子

没有重组 DNA 技术的发展，认识细胞功能机制的关键线索仍然会继续在基因组中沉睡。科学家们认识到遗传信息编码在 DNA 的核苷酸序列中之后，他们所需要的就是盯住这些“单个”的基因看看它的“样子”，研究一下它的功能。在 20 世纪 70 年代的 DNA 技术革命之前，完成这项任务几乎是不可能的。部分原因是根本无从下手分离一个独立基因。与蛋白质不同，在细胞中基因不是以一种独立的实体存在，而是更大的 DNA 分子中的一小部分。即使是细菌的基因组，虽然比真核生物的染色体简单得多，也是非常长的。例如，大肠杆菌含有 4600 万个核苷酸。

大的 DNA 片段会被机械剪切破坏成很多小片段，但是即使如此，带有某一个基因的片段也是所得到的成千上万个片段中的一个，如哺乳动物的基因组。在样品中，含有同一个大 DNA 分子的许多相同的拷贝，而每个分子被剪切破坏的方式不同，由此产生的是一组混乱的随机片段。那么，如何来分离和鉴定一个基因呢?

这类问题的解决很大程度上取决于细菌中一类被称为**限制性核酸酶**的发现。核酸酶可以催化核苷酸中的磷酸二酯键的水解。但是这类酶具有不同于其他核酸酶的特点：它们只对双链 DNA 中某些特定位点进行切割，这些位点是由核苷酸的一小段序列决定的。因此，限制性核酸

酶能够重复地从任何基因组中切出特定的 DNA 片段。在这一节中，我们首先讲述的是这些酶是如何作用的，以及由此产生的 DNA 片段是如何彼此分离的。然后我们讨论如何标记这些片段从而发现带有我们感兴趣的 DNA 的片段。

10.1.1 限制性核酸酶在特定位点切开 DNA 分子

同其他 DNA 技术的工具一样，限制性核酸酶是研究者在分析引起他们兴趣的某一个特定的生物学问题时发现的。他们发现，某一类细菌总是将实验中转化进去的"外来"DNA 降解掉。在寻找这一靶向降解的原因时，在宿主细菌中发现了这样一类新的核酸酶，它只在核酸序列中的特定位置切割 DNA。而细菌自身 DNA 中的相同序列却经过化学修饰而被保护下来。因为这些酶限制了不同菌株间的 DNA 转移，所以被称为**限制性核酸酶**。在细菌生物学中这样一个貌似神秘问题的解决方法却永久地改变了细胞和分子生物学家的研究方式。

不同的菌株含有不同的限制性核酸酶，每种都是在核苷酸上不同的特定序列位点切割（图 10-2）。因为这些靶序列都很短，通常是 4～8 个核苷酸对，所以在任何较长的 DNA 分子中，切割位点都会由于概率而存在。因此，限制性核酸酶可以用于任何来源的 DNA。限制性核酸酶之所以很有用主要原因是同一种酶总能在给定的 DNA 分子上的相同位点进行切割。这样，对于人体来源的 DNA 样品，一个特定的限制性核酸酶将总是产生一组相同的 DNA 片段。现在许多公司出售限制性核酸酶，一般都可以邮购；在线的产品目录上列出了上百种酶，每一种切割不同的 DNA 序列。

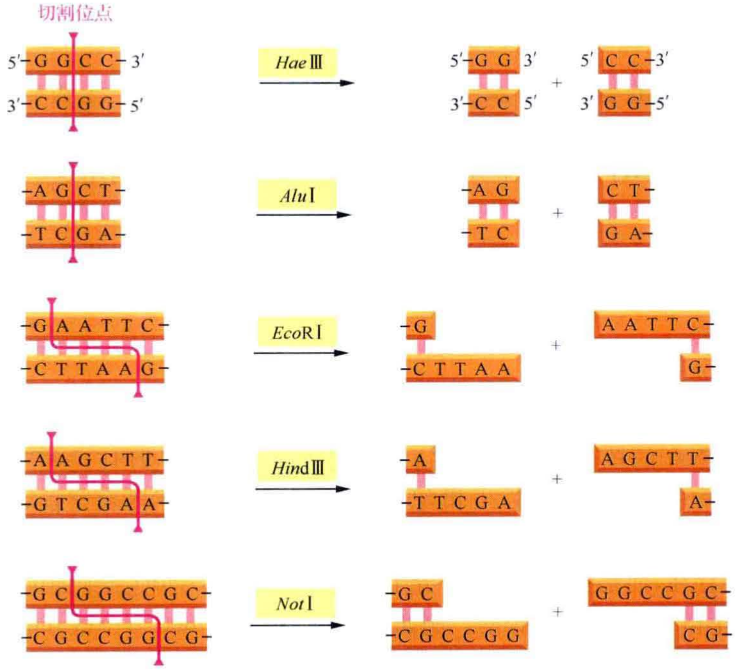


图 10-2 限制性核酸酶在 DNA 特定的序列位点上进行切割。靶序列一般是回文结构，也就是两条链的核苷酸序列呈中心对称。在这些例子中，DNA 双链在靶序列中间的特定位点被切割。而有些酶，如 *Hae*Ⅲ和 *Alu* Ⅰ，将 DNA 双螺旋直接切断而留下两个钝头的末端；另一些，如*Eco*RⅠ，*Hind*Ⅲ，和 *Not* Ⅰ，每条链上的切割是锯齿状的。这些锯齿状的切割产生短的"黏端"，单链的突起利于切开的 DNA 分子通过碱基配对互补重新连接在一起。正如我们在本章后面部分将要讨论的，这种 DNA 分子的重接对 DNA 克隆变得非常重要。限制性核酸酶一般来源于细菌，它们的名字可以反映它们的来源：如 *Eco*R Ⅰ就来自于大肠杆菌（*Escherichia coli*）。

限制性核酸酶的靶位点在 DNA 上出现的频率互不相同。如图 10-2 所示，*Hae*Ⅲ酶切割 4 个核苷酸对的位点；如果单纯按概率计算，这个位点出现的频率大约是每 256 个核苷酸对出现 1 次（$1/4^4$）。同样的道理，*Not* Ⅰ酶，靶位点含有 8 个核苷酸，预计平均每65 536个核苷酸对有一个切割位点（$1/4^8$）。因此，不同的限制性核酸酶切割产生的 DNA 片段的平均大小可能会相差很大。这样我们就可以把一条较长 DNA 分子切割成大小合适的片段，使得其最符合我们应用的要求。

10.1.2 凝胶电泳分离片段大小不同的DNA分子

一个较大的DNA分子用限制性核酸酶切割成较小的片段后，就需要把DNA片段彼此分离开。通常是利用凝胶电泳，根据长度的不同将DNA片段分开。这些凝胶是由孔状的微小网络组成的，通常在平板状的琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶的一端加入DNA片段的混合物，然后在凝胶板的两端加上电压。因为DNA是带负电的，所以DNA片段向正极移动。大的DNA片段移动较慢，因为它们的移动受到琼脂糖基质更多的阻碍。几个小时后，DNA片段根据长度大小在凝胶上分开，形成了由离散条带组成的阶梯，每条带都是长度相同的DNA分子的集合(图10-3A)。

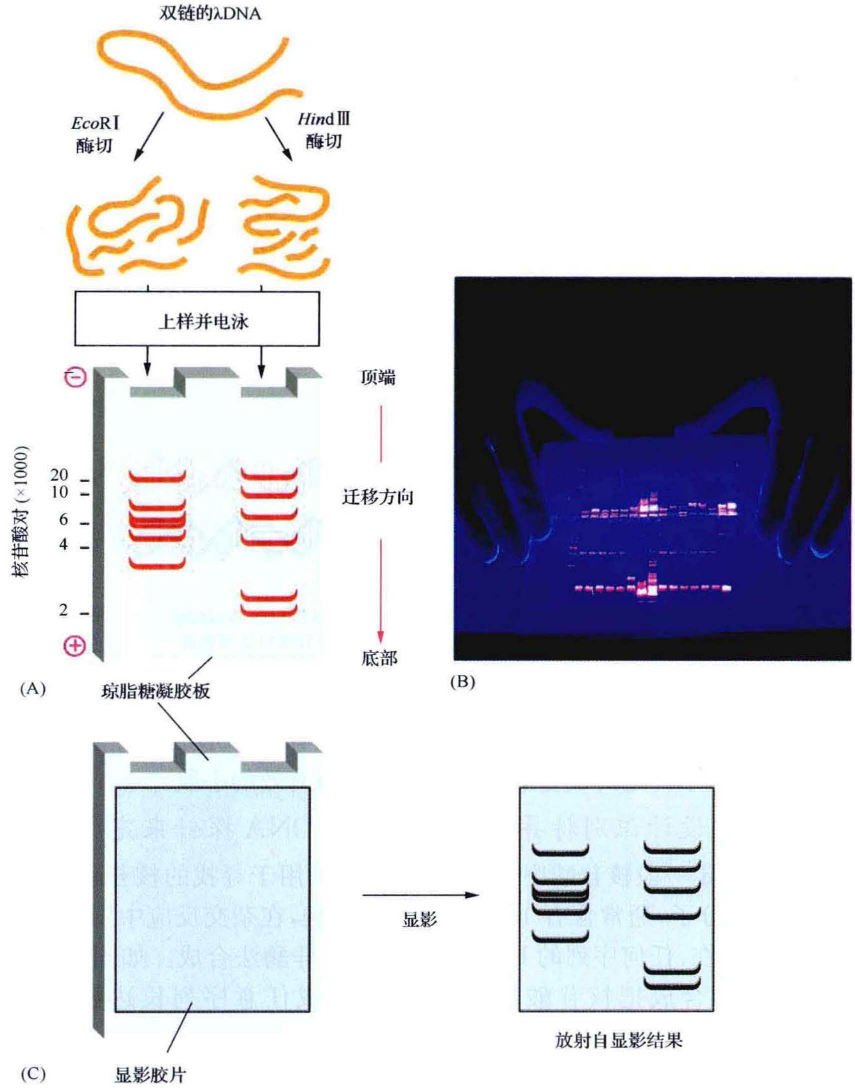


图10-3 凝胶电泳分离开片段大小不同的DNA分子。(A)示意图中比较了同一种DNA分子(本例中采用的是λ噬菌体)被两种不同的限制性核酸酶切割的结果：*Eco*RⅠ(左)，*Hind*Ⅲ(右)。这些片段采用凝胶电泳进行分离。因为大片段迁移的速度比小片段慢，所有图中最低的条带中的DNA片段最小。(B)为了显示出DNA条带，凝胶浸于能够结合DNA并在紫外灯下能发出荧光的染料中——如溴化乙锭。(C)另一种利用放射自显影技术观察DNA条带的方法。在进行限制性酶切之前，利用^{32}P替换掉DNA分子中非放射性的磷原子来对其标记。例如，通过在含有^{32}P的介质中复制λ噬菌体来实现DNA的分子标记。因为^{32}P释放出的β粒子可以使摄影胶片曝光，放置在琼脂糖凝胶上面的胶片在暗室中显影后就可以显示出所有的DNA条带的位置。(B图来自于Science Photo Library)

机械法分离特定的DNA片段就变得很简单：用手术刀或者剃须刀片切下含有DNA条带的一小块胶条然后提取出来就可以了。

琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶上的DNA条带是不可见的，除非DNA分子经过某种方式标记或染色。一种非常灵敏的DNA染色方法是把它置于染料中，结合了染料的DNA在紫外灯下能发出荧光（图10-3B）。一种更灵敏的检测方法是在电泳前把放射性核素掺入DNA分子中；通常使用^{32}P，因为它能掺入到DNA的磷酸分子中，放射出高能的β粒子，而且能很方便地用放射自显影技术检出（图10-3C）。

10.1.3 杂交为检测特定核苷酸序列提供了灵敏的方法

将凝胶置于能够结合DNA的荧光染料中或者用^{32}P标记DNA都可以让我们看清楚凝胶上的每条带。但是它不能显示这些条带中哪一条含有我们所需要的DNA片段。为了寻找含有感兴趣的核苷酸序列的片段，我们可以利用这样一个事实：一条DNA单链与另一条具有互补序列的DNA链可以形成Waston-Crick碱基配对。

在正常情况下，双螺旋DNA两条链通过氢键结合在一起，通过将DNA加热到90℃或者置于极端pH环境可以打开这些键。这些处理在将两条链分开的同时，并不会打断每条链内部连接各个核苷酸的共价键。如果慢慢地逆转这个过程（也就是说，把温度缓慢地降至正常体温或者把pH调回到中性），互补的两条链将会重新形成双螺旋。这个过程称为**杂交**或者**复性**，这是互补的氢键重新建立的结果（图10-4）。

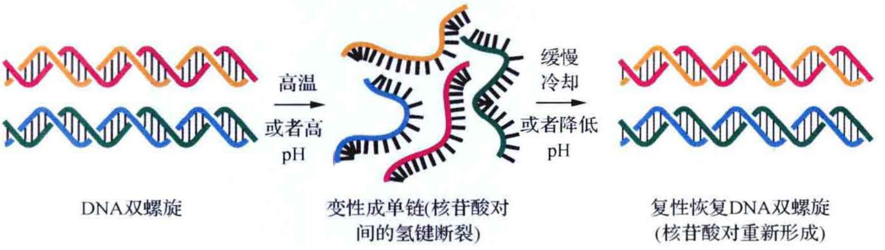


图10-4　一个DNA分子变性和复性的过程（杂交）。两条核苷酸链必须要有能够使碱基配对的互补序列才可以进行杂交。在本例中，红色和橘色的DNA链互补，蓝色和绿色的链互补。

只要核苷酸序列互补，类似的杂交反应将会在任何两条单链的核酸链（DNA/DNA、RNA/RNA或RNA/DNA）之间发生。单链核酸分子只能与互补分子形成双螺旋这一基本特性，为我们检测DNA和RNA中特定的核苷酸序列提供了十分有效的手段。

10.1.4 杂交是通过设计识别特异核苷酸序列的DNA探针来完成的

想要通过杂交去鉴定一段核苷酸序列，首先要有一段用于寻找的核苷酸序列。这种DNA探针是一条单链DNA分子，通常含有10～1000个核苷酸，在杂交反应中用来检测含有与其序列互补的核酸分子。现在，任何序列的DNA探针都可用非酶法合成。如同微波炉大小的机器可设定程序，通过化学合成把核苷酸串接在一起，形成任意序列长达数百个核苷酸的单链DNA。

当然，要想知道应该合成什么序列，首先应该清楚所要研究的DNA片段的序列是什么。例如：一个人想要鉴定含有部分β-globin基因的DNA片段。由于这个基因的序列是已知的，得到识别该序列的这样一个探针就变成简单地在数据库中查找序列然后开动核酸合成仪而已。目前，这些探针可以从合成自定义序列的公司定制。简单地给公司发一封含有所需DNA分子序列的电子邮件，第二天DNA分子就会被寄来。

一旦有了探针，我们就可以在琼脂糖凝胶中那些按片段大小分离开的DNA分子间鉴定出与探针序列互补的片段。琼脂糖凝胶上杂交的结果可以通过Southern blotting显示出来，这项

实验室的常用技术是以发明者的名字命名的(图 10-5)。

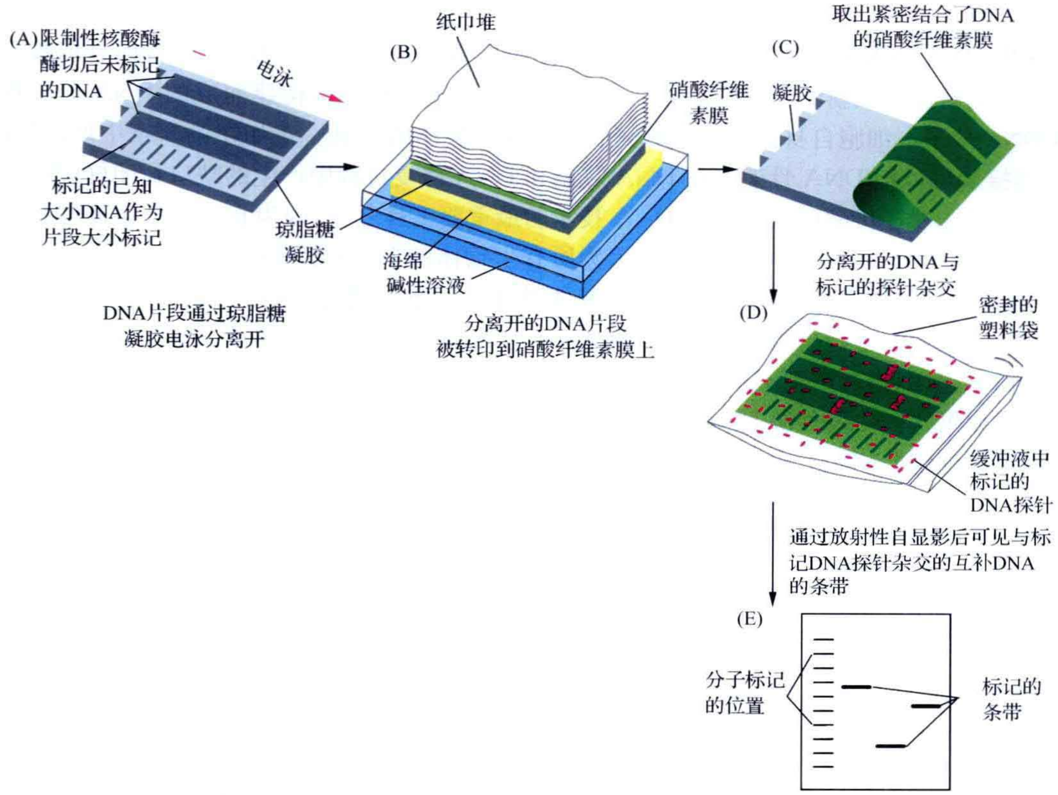


图 10-5 利用凝胶转移杂交或者 Southern blotting 检测特定的 DNA 片段。(A)经过限制性核酸酶处理后产生的双链 DNA 片段的混合物,被电泳按片段长度分离。(B)铺在凝胶上的一张硝酸纤维素膜或者尼龙膜,通过印迹法将分离的 DNA 转移到膜上。凝胶放在浸于碱性溶液的海绵上,这些缓冲溶液受堆积在顶部的纸巾吸引,透过凝胶和硝酸纤维素膜。随着缓冲液的向上流动,它将凝胶中的 DNA 变性并把单链 DNA 片段转移到硝酸纤维素膜的表面,同时与其紧紧地结合。(C)将硝酸纤维素膜小心地从凝胶上剥离下来。(D)在利于杂交的条件下,将结合有单链 DNA 片段的膜暴露在放射性标记的 DNA 探针中,该探针与所需的 DNA 片段序列互补。(E)充分洗涤杂交膜,使得膜上只剩下与 DNA 杂交的探针分子。自显影后,与标记的探针杂交的 DNA 会显示在胶片上。类似的用于检测特定 RNA 序列的技术称为 Northern blotting。此时,凝胶中电泳的是 mRNA,探针通常是单链 DNA。

在细胞生物学中,DNA 探针具有广泛的应用。在本章后面的部分中我们会讲述特异探针的杂交是如何确定一个基因是在发育的哪些组织和哪些阶段表达的。但是,首先我们将讨论杂交如何推进 DNA 克隆技术的进程。

10.2 DNA 克隆技术

我们已经看到 DNA 分子可以被限制性核酸酶切割成较短的片段,并可以通过凝胶电泳把这些片段分离开。我们也看到核酸杂交是如何用已知序列的 DNA 探针挑选出匹配的序列。在本节中,我们将看到如何将这些操作组合在一起从基因组中得到一段 DNA。也就是说,我们会讨论基因组中一段特定的序列是如何被克隆的。**DNA 克隆**这个术语字面上是指制造出一个 DNA 分子许多份相同拷贝的操作。正是这种扩增才使得从一个细胞的总 DNA 中物理性地分离出某一条特定的 DNA 序列(通常为感兴趣的基因)成为可能,这些总 DNA 相对于最终扩增出的序列是极其微量的。从基因组中得到某一特定 DNA 片段的大量拷贝是重组 DNA 技术最

重要的功劳之一，因为这是研究基因组中每段 DNA 分子功能的起点。

10.2.1 DNA 连接酶将 DNA 片段连接成一个重组 DNA 分子

现代 DNA 技术不仅依赖于将长 DNA 分子打断成合适大小的片段的本领，而且依赖于将这些片段重新连接成新的组合的能力。在实验室中利用这种技术构建而成的 DNA 分子称为**重组 DNA 分子**。细胞自身提供了能够完成所有这些操作的工具。正如在第 6 章中所讨论的，**DNA 连接酶**可以把 DNA 骨架上在 DNA 复制和 DNA 修复过程中产生的缺口封闭好(图 6-16，图 6-26)。DNA 连接酶已成为重组 DNA 技术的最重要工具之一，因为它让科学家能够把任何两个 DNA 片段连接在一起(图 10-6)。因为所有生物体的 DNA 都具有相同的化学结构，大自然这种简单的策略使得任何来源的 DNA 都能被连在一起。通过这种方式，分离出来的 DNA 片段就能在试管中进行重组，产生自然界中所不存在的 DNA 分子。两个 DNA 分子一旦由连接酶连在一起，细胞就辨别不出这两个 DNA 分子最初是分开的，而只将连接后的 DNA 作为一个分子。如果这样一段外源 DNA 被恰当地引入到一个宿主细胞中，它将会被复制和转录，如同它是这个细胞 DNA 分子中正常的一部分。

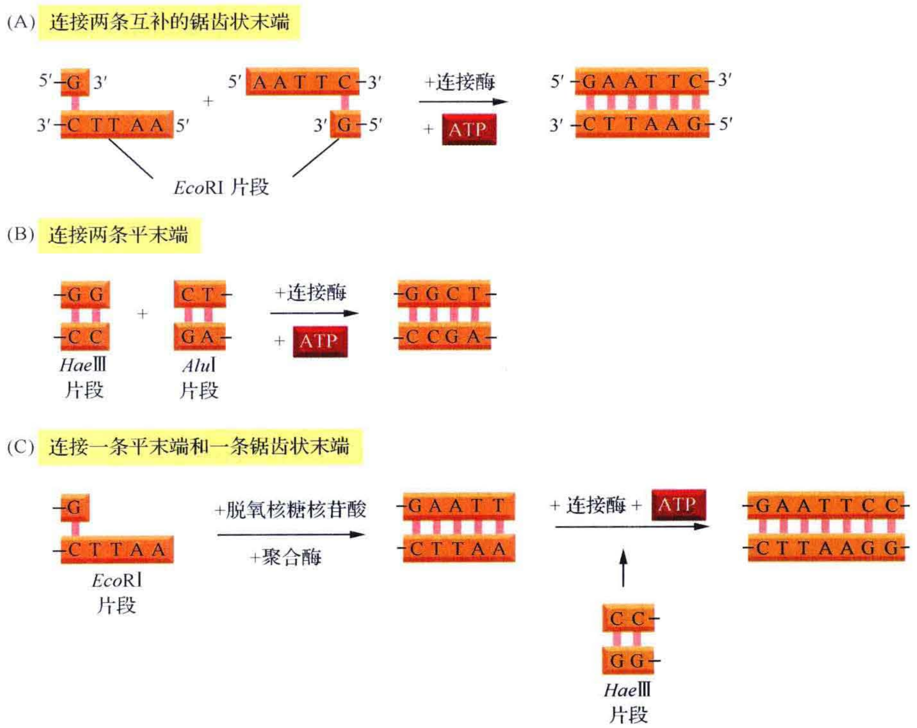


图 10-6 重组 DNA 分子可以在体外合成。DNA 连接酶可以将任何两个 DNA 片段连接在一起。ATP 为连接酶提供能量，将 DNA 骨架上的糖和磷酸重新封接。(A)两条 DNA 片段的连接部位由限制性核酸酶 *Eco*R Ⅰ产生。该酶所产生的锯齿状末端使两个片段碱基能够正确配对，促进二者的连接。连接反应还原了最初的限制性核酸酶切割位点。(B)分别被限制性核酸酶 *Hae*Ⅲ和 *Alu*Ⅰ切割的两条 DNA 片段的连接。(C)分别被限制性核酸酶 *Eco*RⅠ和 *Hae*Ⅲ切割的两条 DNA 片段的连接，其中 *Eco*RⅠ切割产生的锯齿状末端被 DNA 聚合酶补平。图中的每个 DNA 片段，上面一条链是 5′端在左，下面一条链 5′端则在右(如图 A 所示)。

10.2.2 重组 DNA 分子可以在细菌中进行复制

要得到一段 DNA(通常是一个基因的许多相同拷贝)有几种方法。一种方法是将 DNA 引

入到快速分裂的细菌中进行复制；细菌每次复制自身 DNA 的同时也复制了引入的 DNA。

DNA 可以通过一种被称为转化的机制被引入到细菌中。有些细菌可以在自然状态下吸纳其周围的 DNA 分子，这些 DNA 分子穿过细胞膜进入细胞。进入的 DNA 分子常常可以通过同源重组嵌入到基因组中。**转化**这个词就来自早期对这一现象的观察，因为看起来一种菌株转变成了另外一种。蓄意地将从其他菌株纯化得来的 DNA 转化到一种菌株，曾经首次为我们认识 DNA 是遗传物质提供了实验证据(参考**"我们如何得知"**)。

在自然中的细菌群落中，转化所需要的 DNA 来自细菌死后所释放到环境中的内容物，这其中就包括 DNA。但是，在试管中，细菌如 *E. coli* 可以错误的吸纳实验室中制造的重组 DNA 分子(图 10-7)。对实验者来说明显的优势就是，裸露的 DNA，不管是不是来自同一菌株，都能通过这种方式转入到细菌中。因此，通过细菌转化，来自复杂生物体的 DNA，包括人类的，都能容易的在实验室中进行研究。

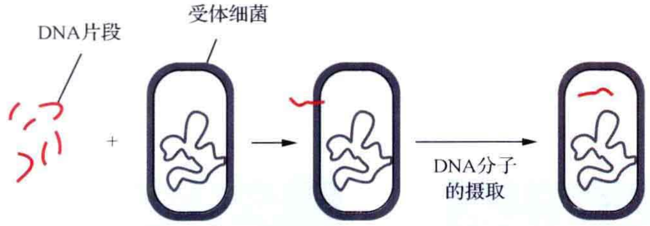


图 10-7 有些细菌可以高效的从周围环境中吸纳外源 DNA，这种现象称为转化。在实验室中，用于转化的 DNA 可以来源于任何生命体，包括人类。一旦进入受体细胞，供体 DNA 就可以成为受体基因组的一部分(通过同源重组过程，参见第 6 章)；或者在特殊情况下，成为独立于细菌染色体之外的 DNA 片段(我们接下来将会讨论)。

10.2.3 特定的质粒载体被用来克隆 DNA

同前所述，自然状态下，被转化到细菌中的 DNA 经常会成为细菌基因组的一部分。但是，对克隆感兴趣的研究者发现当这些重组 DNA 作为独立于细菌染色体之外的分子时，对其进行操作、复制、纯化要更容易。为了在细菌中保留外源 DNA，一种细菌**质粒**(或者病毒基因组)被当作携带者，或者载体。一个典型的质粒克隆载体是一种具有几千个核苷酸对的相对较小的环状 DNA 分子，它可以在细菌中复制(图 10-8)。一个质粒载体包括一个复制起始点，作用是使质粒能够在细菌中不依赖于细菌染色体而独立复制。它也含有限制性核酸酶的切割位点，这样质粒能够方便地被切开并插入外源 DNA 片段。质粒通常含有一个具有筛选特性的基因，如抗生素的基因，这样就能够容易地把带有重组质粒的细菌挑选出来。

质粒天然存在于多种细菌中。质粒最初被外科医生和科学家发现是因为它们常常具有可以使宿主细菌抵抗一种或者多种抗生素的基因。事实上，历史上很强大的抗生素——如青霉素，对于今天的细菌感染已经不那么有效，因为能够抵抗这类抗生素的质粒已经通过细菌不同菌株间水平转移扩散开来(图 9-17)。在重组 DNA 研究中使用的质粒基本上是这些天然存在的质粒的精简版本。

为了将一段 DNA 插入到一个质粒中，纯化的质粒 DNA 在一个位点被限制性核酸酶切开，然后利用 DNA 连接酶将

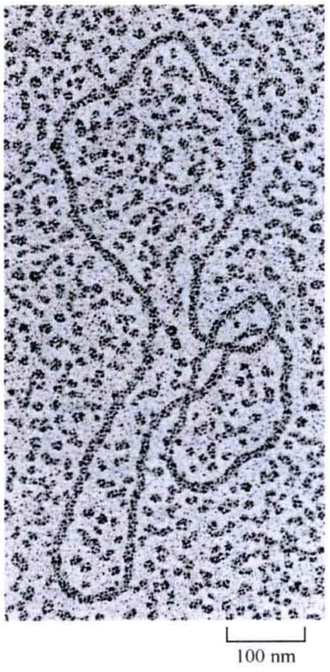


图 10-8 常用作克隆载体的细菌质粒的电镜图。这个环状双链 DNA 分子含有几千对核苷酸。为了让 DNA 可见而进行的染色使其在这张电镜照片上看上去比实际上更粗。(蒙 Brian Wells 提供)

想要克隆的 DNA 片段连入该位点(图 10-9)。这个重组 DNA 分子通过转化被引入到细菌(通常是 *E. coli*)中,然后细菌在营养肉汤中生长,每 30 min 倍增一次。细菌倍增的同时,重组 DNA 分子的拷贝数也同时加倍,仅仅一天之后,就可以产生上百万份拷贝的质粒。然后将细菌裂解,质粒 DNA 因为相对较小而被从细胞其他内容物包括较大的细菌染色体中纯化出来。纯化出的质粒 DNA 中将会含有上百万份的原始 DNA 片段的拷贝(图 10-10)。通过合适的限制性酶切割下质粒上的这些 DNA 片段,然后利用凝胶电泳把它们和质粒 DNA 分离开,就可以得到纯的 DNA 片段(图 10-3)。这些步骤可以有效地纯化来源于任何生物体的基因组 DNA 片段。

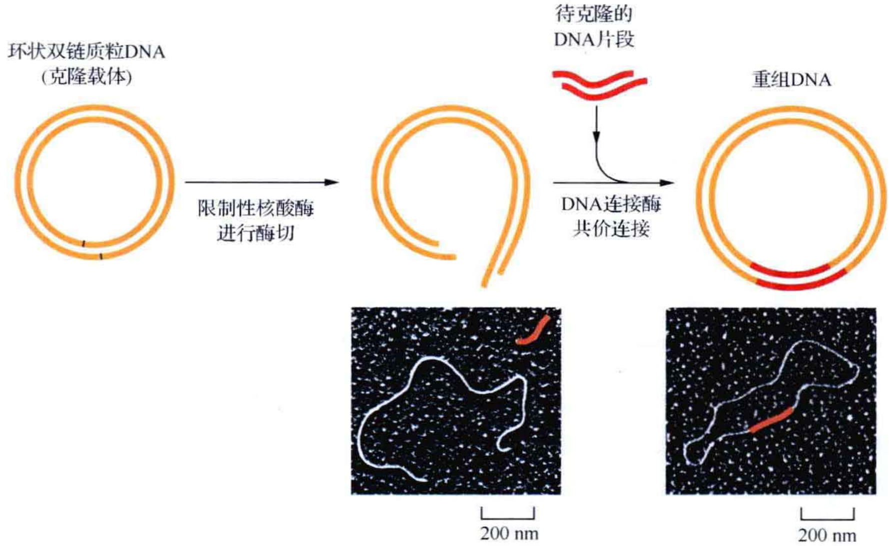


图 10-9 通过 DNA 连接酶将一段 DNA 插入到细菌质粒中。质粒被限制性核酸酶切开(在本例中产生的是锯齿状末端),然后与将要克隆的 DNA 片段(提前用相同的限制性核酸酶切开)混合,然后加入 DNA 连接酶及 ATP。DNA 连接酶将锯齿状末端的碱基对与 DNA 骨架上的缺刻连接成完整的重组 DNA 分子。在电镜图片中,我们将 DNA 片段标上红色以利于观察。(显微图片来自于 Huntington Potter 和 David Dressler)

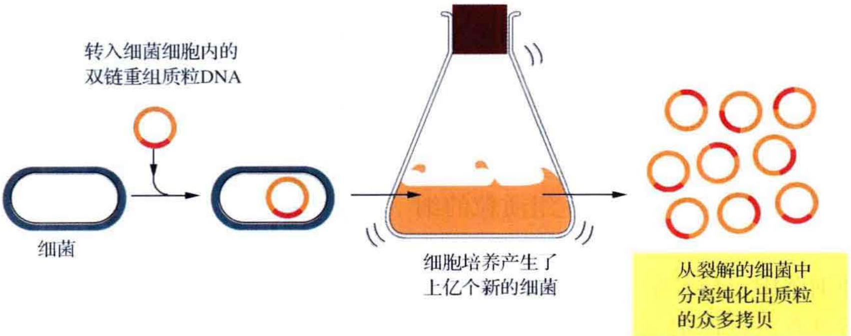


图 10-10 一个 DNA 片段可以在细菌体内复制。为了克隆一个特定的 DNA 片段,首先应将其插入到质粒中,如图 10-9 所示。然后将重组的质粒 DNA 通过转化进入细菌中,随着细菌的复制它也被复制了上百万倍。为简单起见,图中细菌的基因组没有显示。

10.2.4 基因可以从 DNA 文库中分离得到

我们已经知道任何 DNA 片段是如何进入到细菌中而被复制上百万倍的。但是一开始这些 DNA 片段是如何鉴别并被选中的呢?确切地说,如果提前不知道每个基因的序列,人类的每个基因又是如何被分离出来的呢?作为例子,我们选择人类凝血蛋白Ⅷ因子基因的克隆进行阐述。虽然今天克隆人类基因的方法已经与本例千差万别,这个例子还是阐释了 DNA 克隆大体的特点。

凝血因子Ⅷ基因的缺陷是最常见的一类血友病——血友病 A 的致病原因。这种遗传病已

经发现了上千年，大约每 1 万个男性中就有 1 个罹患该病。血友病 A 患者不能够产生具有完全活性的凝血因子Ⅷ，因此会重复出现流血不止的症状。直到现在，该病的常规治疗方法还是注射从大量血液样品中提取的浓缩凝血因子Ⅷ。不幸的是，在血液制品常规筛查 HIV——导致艾滋病的病毒——的方法建立之前，这种疗法使许多患者感染了 HIV。采用重组 DNA 技术制造出的纯的凝血因子Ⅷ的商业化生产，显著地改进了血友病的治疗。完成这项技术需要克隆人类正常的凝血因子Ⅷ并将其编码序列拼接起来，然后像我们将要描述的，这些 DNA 序列会产生大量的纯化蛋白。

处理人类基因组全部的 3×10^9 个核苷酸对是一项非常艰巨的任务，所以克隆其中任何一个基因首先要把总基因组 DNA 打散成较小的、更易于操作的片段。进行这一操作的大体流程如图 10-11 所示。人类基因组首先从组织样品或者培养细胞中提取出来并用限制性核酸酶切断，从而产生上百万种不同的 DNA 片段。这些 DNA 片段的混合物接着被连接到质粒载体中，每个质粒分子只能连接单个的 DNA 片段。这些重组的质粒与一定浓度的大肠杆菌培养物混合，以确保每个细菌不会吸纳多于一个的质粒分子。所产生的包含所有克隆 DNA 片段的细菌培养物的总和称为 **DNA 文库**。在本例中称为基因组文库，因为这些 DNA 片段直接来自染色体 DNA。如果在培养皿上分离出的克隆都是由单个细菌产生的，那么每个细菌克隆就代表了一段特定的人类 DNA。因此在这个文库中，几百万个克隆的集合就代表了人类的整个基因组。

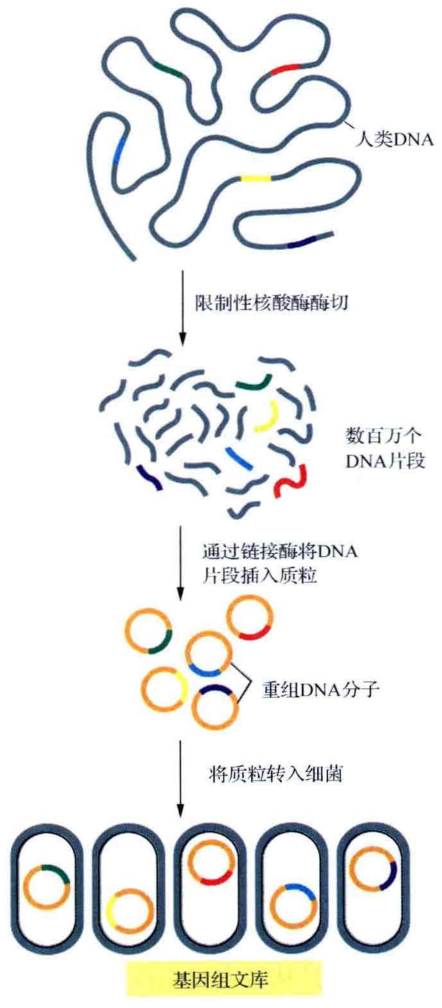


图 10-11 利用限制性核酸酶以及连接酶可以构建人类基因组文库。一个基因组文库是细菌的集合，每个细菌携带有一小段不同的人类 DNA 片段。为简单起见，在文库中只显示了有颜色标示的 DNA 片段；实际上，文库中包含以上所有灰色的片段。

为了找到一个特定的基因，我们现在面临着这样一个问题，就像我们进入了一个有上百万书籍的真正的图书馆，才发现图书馆里没有书籍目录卡或者计算机列表帮我们找到我们所需要的那一本。我们如何在庞大的人类 DNA 文库中找到一段特定的 DNA 呢(在这里是凝血因子Ⅷ基因)? 解决问题的关键就是利用本章前面部分讲到的核酸的杂交特性。如果我们有一段凝血因子Ⅷ基因的 DNA 探针，我们就能利用它在文库中找到与其相匹配的克隆。但在基因本身被鉴定和克隆之前，这样的探针又从何而来?

本例中，通过凝血的生化检测，我们已经从人体血液供体中纯化出了少量的凝血因子Ⅷ的蛋白。蛋白质的部分氨基酸序列也被确定了(今天这项任务可以用质谱来完成；参考图 4-45)。通过遗传密码子反推，就能推导出编码这些氨基酸的 DNA 序列。然后这些核苷酸序列经化学合成为合适的 DNA 探针。利用这个探针，文库中含有与凝血因子Ⅷ基因互补的稀有的细菌克隆就能通

过 DNA 杂交被鉴定出来(图 10-12)。

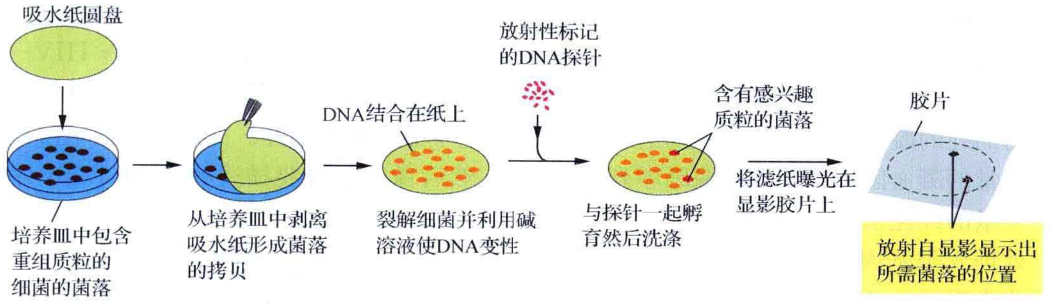


图 10-12 通过杂交可以鉴定出含有某个特定 DNA 的细菌克隆。培养皿中所有克隆的副本可以通过压一片吸水纸在平皿表面获得。该副本用碱处理(裂解细胞并使质粒 DNA 变成单链),然后用强放射性的 DNA 探针与其杂交。放射自显影可以显示出那些与探针结合的菌落克隆。而与其对应的原始平皿上的活的细菌克隆就可以被分离出来了。

当凝血因子Ⅷ探针第一次在人类基因组文库中使用时,鉴定出了单个互补克隆。这个克隆的 DNA 核苷酸序列显示它只是凝血因子Ⅷ基因的一小部分,而完整的基因必须要花大力气拼接而成。我们现在知道凝血因子Ⅷ基因全长 180 000 个核苷酸对,含许多个内含子(图 7-18B),所以没有一个基因组克隆能包含整个基因是不足为奇的。

最初人类的许多基因的克隆都同前面提到的凝血因子Ⅷ的程序差不多。而现在人类基因组的全部序列都知道了,克隆某个基因就变得更加简单。例如,一旦知道了我们所感兴趣的蛋白质的氨基酸序列,就可以在计算机的帮助下,直接在人类基因组序列中找到编码该蛋白质的基因。只要在电子数据库中找到了该基因,就可以设计探针将这个基因从文库中挑出来。简单地说,我们甚至可能直接从人类基因组的样品中克隆出某个基因,而完全不使用文库。

10.2.5 cDNA 文库代表一个特定组织所产生的 mRNA

对于许多应用目的来说,得到只含有编码序列的基因形式是非常有优势的;也就是,该基因形式没有内含子 DNA。以凝血因子Ⅷ为例,全部的基因组序列(包括内含子和外显子)是如此地庞大和臃肿,以至于只能把它分成几份来操作。而且,如果想要简单地通过核苷酸序列就推导出凝血因子Ⅷ基因全部的氨基酸序列,搞清楚每个外显子从哪里起始到哪里结束就十分困难;毕竟,基因序列绝大部分是内含子(图 7-18B)。幸运的是,得到一个没有内含子的基因还是相对简单的。为了达到这个目的,需要用到的是另一种不同的文库,称为 cDNA 文库。

人类的 cDNA 文库和前面描述的基因组文库相似,即它也是含有许多不同的人类 DNA 序列的无数个克隆。但有一个重要区别,即进入 **cDNA 文库**的 DNA 序列不是基因组 DNA(染色体 DNA),而是从特定组织或培养细胞中的 mRNA 复制过来的。为了制备一个 cDNA 文库,先要抽提细胞总 mRNA,再由逆转录酶产生 mRNA 分子的 DNA 拷贝(图 10-13)。然后克隆这些互补 DNA(或者说是 cDNA 分子),就像克隆前面提到的基因组 DNA 片段一样,得到 cDNA 文库。例如,由分泌正常凝血因子Ⅷ的肝脏构建成的 cDNA 文库中,就可以分离到凝血因子Ⅷ的完整编码序列,不包括内含子。利用基因组中凝血因子Ⅷ的一部分 DNA 作为探针如图 10-12 所示操作,我们就可以从 cDNA 文库中分离到凝血因子Ⅷ基因的 cDNA。本章的最后部分我们将讲述如何利用人类凝血因子Ⅷ的编码序列来商业化生产凝血因子Ⅷ的纯化蛋白质。

如图 10-14 所示,基因组 DNA 的克隆和 cDNA 的克隆有几点重要差别。基因组克隆代表了一种生物基因组中所有的随机 DNA 序列样品,不论 DNA 来自哪种细胞,基因组克隆都含有相同的序列(极少数例外)。真核生物的基因组克隆中含有大量的重复 DNA 序列、内含子、基

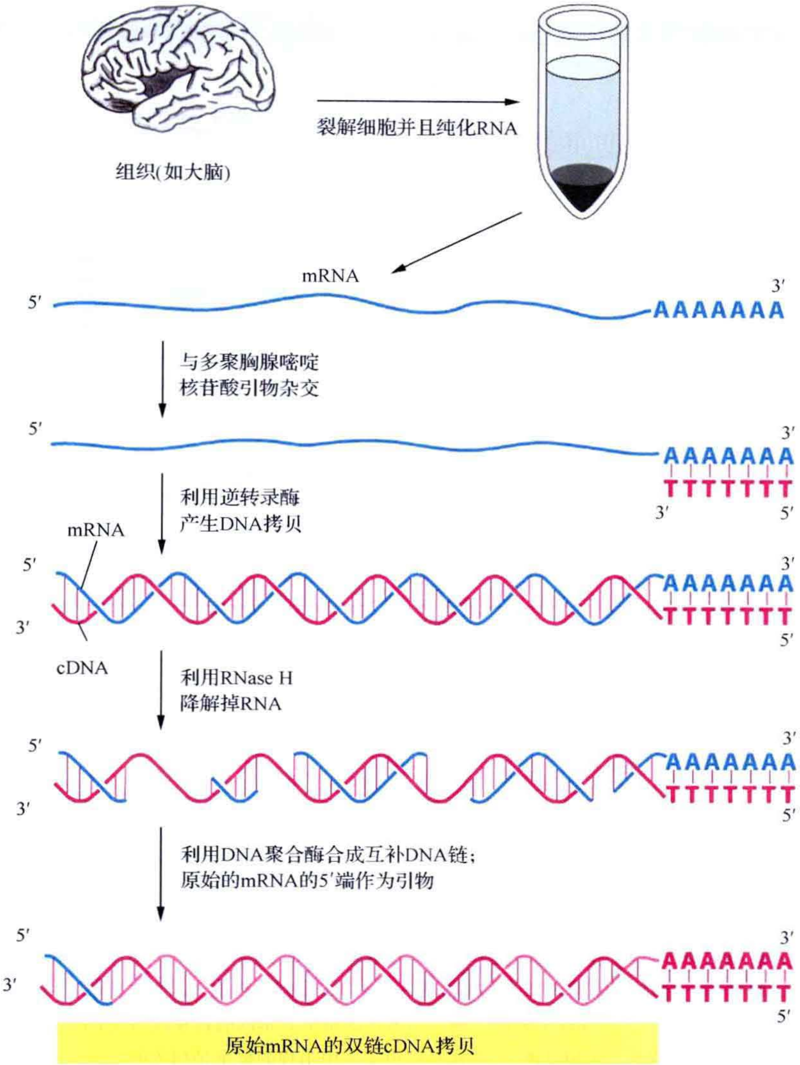


图 10-13 互补 DNA 可以由 mRNA 获得。在某一特定的组织中提取出总 mRNA，然后通过逆转录酶产生 mRNA 的 DNA 拷贝(cDNA)(图 6-38)。为简单起见，这里只显示了其中的一条 mRNA 被逆转录为 cDNA 的过程。

因调控区域及 DNA 间隔序列;编码蛋白质的序列只占到文库中很少的一部分(图 9-29)。而相对地，cDNA 克隆包含的则主要是编码序列，并且只是一部分基因，这些基因在 RNA 来源的组织中已被转录为 mRNA。因为不同组织的细胞产生一组独特的 mRNA 分子，不同的组织中就可以得到不同的 cDNA 文库。基因表达的模式在发育过程不断变化，因此构建 cDNA 文库就能反映在不同发育阶段细胞所表达的基因。

cDNA 克隆最重要的优势是它们含有基因连续的编码序列。这样，无论克隆基因的目的是从 DNA 中推导出蛋白质的氨基酸序列，还是在细菌或酵母中(两者都不能去除哺乳动物 RNA 转录本中的内含子)表达所克隆的基因而大量生产蛋白质，从 cDNA 开始都是非常必要的。

另外，基因组克隆的最主要的优点是它们除了外显子之外还包含了内含子，并且它们包括了决定基因何时何地表达的调控序列。因此，我们将在下面讲述基因组克隆用于确定基因组的全部核苷酸序列。

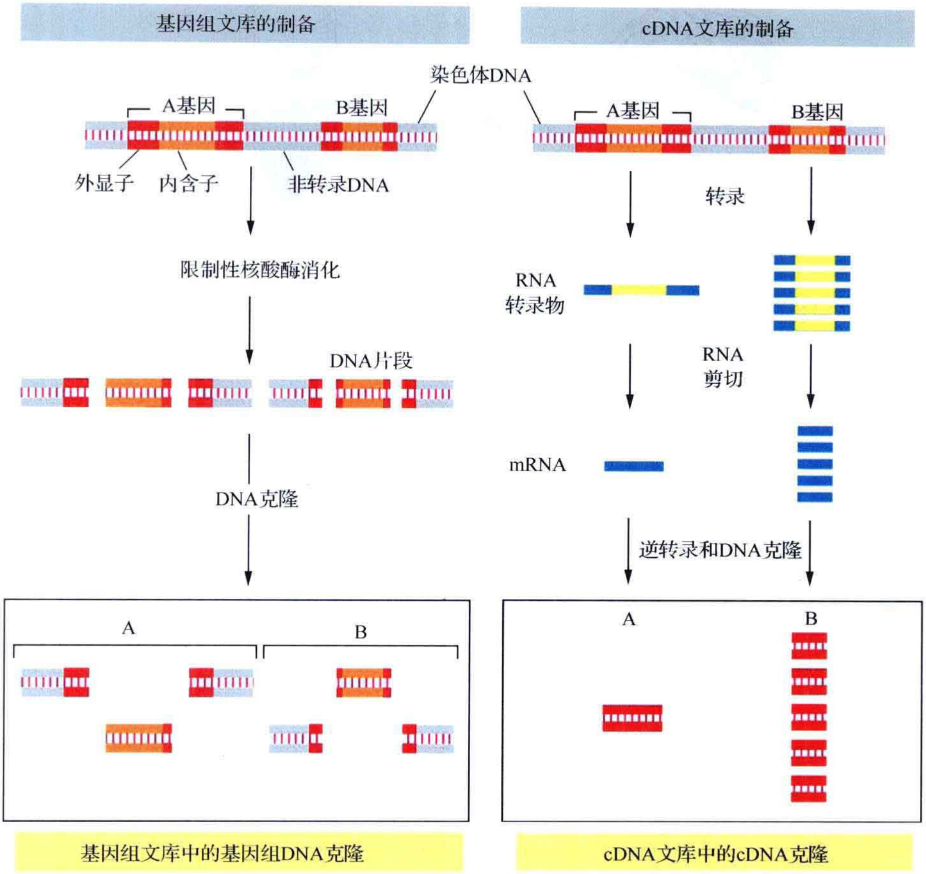


图 10-14 来自 DNA 同一段区域的基因组文库的克隆和 cDNA 文库的克隆不同。在本例中，A 基因转录不活跃，B 基因转录较活跃，两个基因都含有内含子（橘红色）。在基因组文库中，不仅内含子而且非转录 DNA（灰色）都包含在其中，绝大多数克隆只含有基因编码区（红色）的一部分。在 cDNA 文库的克隆中，内含子序列已经在 mRNA（蓝色）形成过程中通过 RNA 剪接去除掉了，因此存在于每个克隆中的是连续的编码序列。因为在细胞中 B 基因的转录较 A 基因活跃，所以在 cDNA 文库中 B 基因的克隆出现概率要高于 A 基因。而相对地，二者在基因组文库中出现的概率是相等的。

10.2.6 聚合酶链反应扩增选定的 DNA 序列

从 DNA 文库中进行克隆曾经是分离基因的唯一路径，而且目前仍然用于全基因组的测序和非常大的基因的操作上。但是**聚合酶链反应（PCR）**新方法为克隆技术的应用提供了一种快速而且简单的选择，尤其是对于那些基因组序列已知的生物体而言更是如此。如今大多数的分子克隆都是用 PCR 来完成的。

发明于 20 世纪 80 年代的 PCR 技术，可以完全在体外完成而不需要使用细胞。利用这种技术，一段给定的核苷酸序列能够从含有该序列的任何 DNA 样品中选择性地快速大量扩增。例如，PCR 技术已经广泛应用于从少量的人 DNA 样品中大量扩增任何所需的基因。目前它在其他方面也有很多应用，包括我们接下来将要讨论的疾病基因的诊断和法医鉴定。

PCR 利用 DNA 聚合酶在复制循环中重复拷贝一个 DNA 模板。聚合酶被一小段寡聚核苷酸引物引导至待扩增的序列，引物在 DNA 模板的起始端和末端与其杂交。这些引物为 DNA 聚合酶在每一条链上的复制起始提供 3′端。引物必须由研究人员设计并按顺序合成，因此 PCR 只能扩增起始端与末端序列已知的 DNA 序列。DNA 复制的每一个循环，模板双链都被

解链并独立复制。图 10-15 中阐释了第一次复制循环的分解步骤。经过许多轮这样的复制循环，序列的大量拷贝——通常是数十亿——被制造出来(图 10-16)。PCR 非常灵敏，它可以通过大量扩增检测出样品中单拷贝的 DNA 序列，而产物在凝胶电泳分离后经过染色就可以看到(图 10-3)。

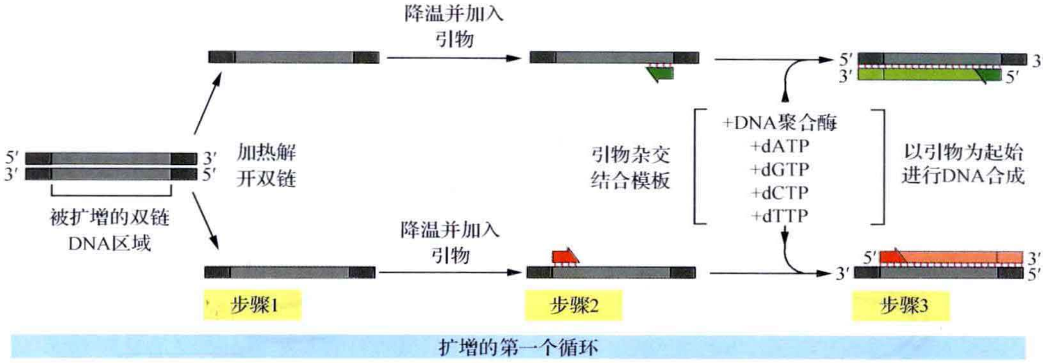


图 10-15　PCR 引物引导目的 DNA 片段的扩增。如果要扩增一段 DNA 序列，首先根据所需扩增的 DNA 序列信息设计合成两条短的 DNA 分子，每条分别与 DNA 双螺旋中的一条链互补，而结合的区域位于需要扩增的 DNA 的两个末端。这些短的 DNA 分子就作为由 DNA 聚合酶完成的体外扩增合成 DNA 的引物，并且决定哪一段 DNA 被扩增出来。PCR 每个循环包括 3 个步骤。首先，双链 DNA 经过短暂加热打开成两条单链(第一步)。DNA 解链后，在大为过量的引物存在下降温，使引物与两条 DNA 单链的互补序列结合(第二步)。这些混合物与 DNA 聚合酶和 4 种 dNTP 一起孵育，由两条引物起始 DNA 的合成(第三步)。接下来的循环又通过热处理解离开新合成的 DNA 双链重新开始。这项技术依赖于从嗜热细菌中分离得到的一种特殊的 DNA 聚合酶；这种酶与真核生物的 DNA 聚合酶相比能够在更高的温度下保持稳定，所以它在第一步的热处理中不会变性。因此不必在每轮 PCR 过后重新添加该酶。

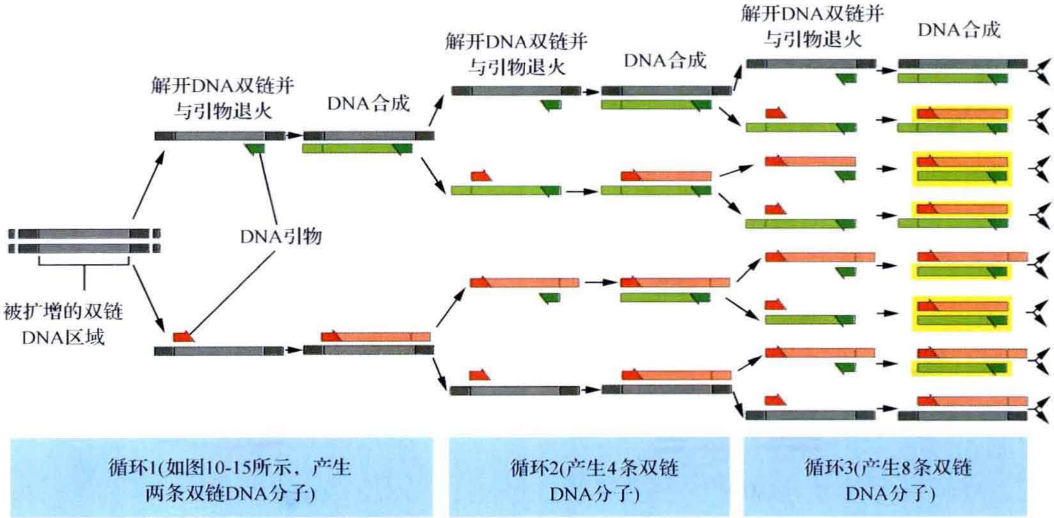


图 10-16　PCR 技术采用重复循环的单链分离，杂交，合成步骤来扩增 DNA。按照图 10-15 所示的步骤循环的重复进行，新合成的片段不断成为下一轮的模板。每一轮过后，合成的 DNA 的量都是前一轮的 2 倍，经过几轮之后，两条引物之间包括引物序列在内的 DNA 就成为产物中主要的 DNA。在本例中，3 轮反应产生了 16 条 DNA 链，其中 8 条(黄色边框)与左边远端所示的原始的序列长度相同且完全匹配；另一条链则在前几轮的复制中含有比原始 DNA 序列多的下游的部分序列。再经过 4 轮的复制，256 条序列中的 240 条 DNA 链会和对应的原始序列相同，而更多的几轮复制后，基本上所有的 DNA 链都会和这些序列相同。虽然 PCR 最开始的 DNA 仍然存在，但是它们的量微乎其微已经可以忽略不计。事实上，有效的 DNA 扩增需要 20～30 个循环。每个循环一般需要 5 min，相对于标准的克隆方法需要几天的时间，现在自动化的机器使我们能够在几个小时内完成 DNA 片段的体外克隆。实验流程见视频 10.1。

PCR 有几种特别的应用。首先，PCR 可从细胞中直接克隆一段相对较短的 DNA(一般少于 10 000 个碱基对)。PCR 反应的初始模板可以是 DNA 或 RNA，所以通过 PCR 既可以获得基因完整的基因组 DNA 拷贝(包括内含子和外显子)，也可以获得 cDNA 的拷贝(图 10-17)。这种方法的巧妙之处在于无需构建 DNA 文库就可以直接从任何 DNA 或者 RNA 片段中克隆基因。

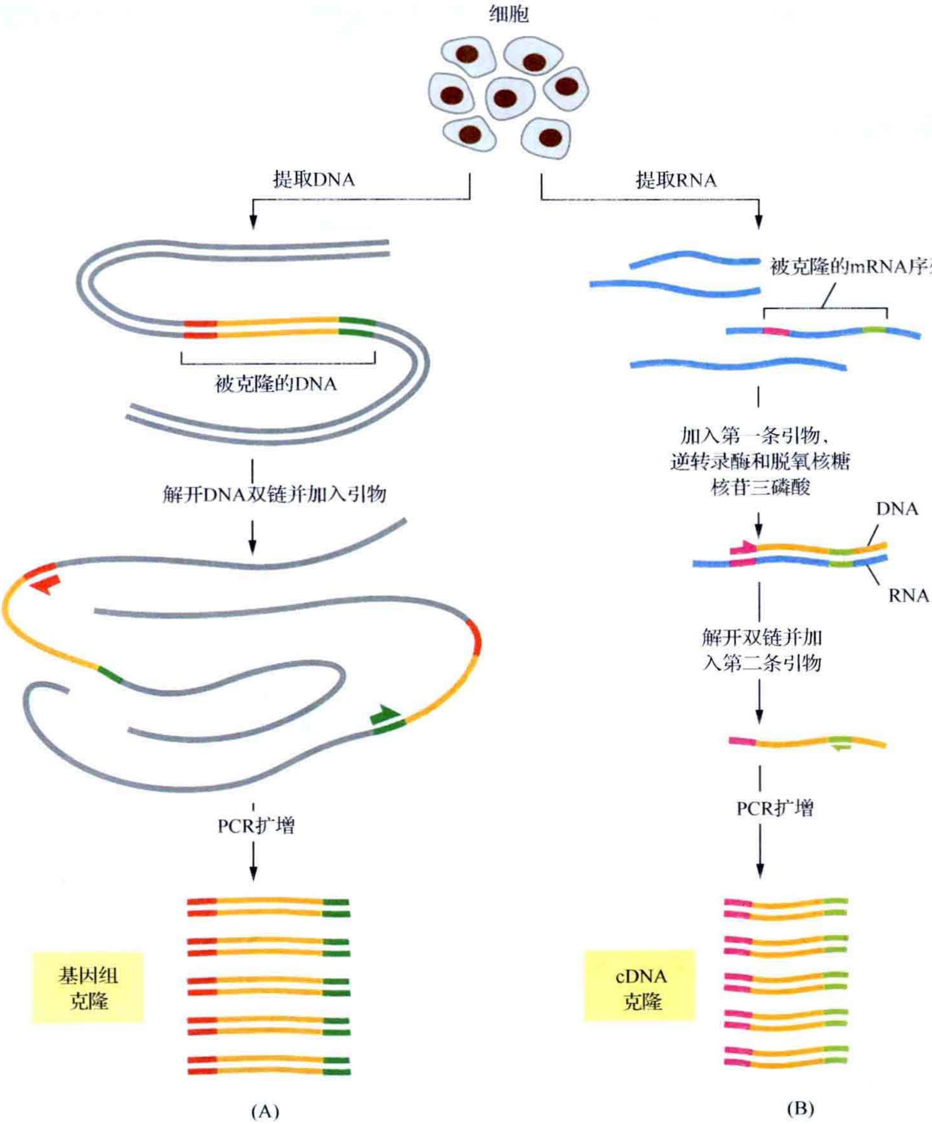


图 10-17　PCR 可以获得基因组或者 cDNA 的克隆。(A)用 PCR 方法获得基因组克隆，首先要将染色体 DNA 从细胞中提取出来。加入针对所需克隆 DNA 片段两侧的引物，完成多个循环的 PCR 反应(图 10-16)。因为只有两条引物中间的 DNA 序列(包括引物序列)被扩增出来，所以 PCR 提供了一种有效地选择性获取纯化的较短的染色体 DNA 片段的方法。(B)利用 PCR 获取一个基因的 cDNA 克隆，首先要从细胞中纯化出 mRNA。然后在 mRNA 中加入第一条引物，逆转录酶使其产生一条互补的 DNA 链。接着加入第二条引物，通过 PCR 循环扩增单链 DNA。

第二个应用是借助于 PCR 极高的灵敏性，可以在非常早的时期检测出病原体感染。此时，以与病原体基因组互补的短序列为引物，经过多个扩增的循环，就可以确定血样中是否存在病原体的少量基因组拷贝（图 10-18）。对许多感染来说，PCR 是最灵敏的检测方法，它已经逐渐取代了用病原体外壳蛋白抗体来检测人体样品中是否含有该病原体的方法。

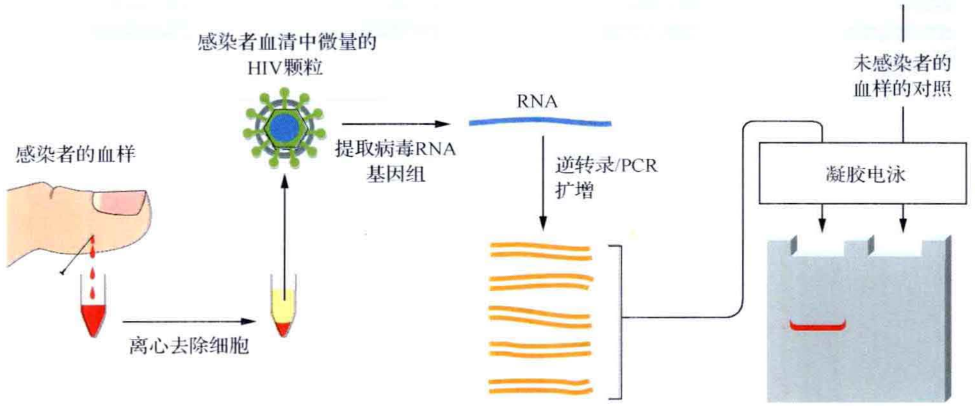
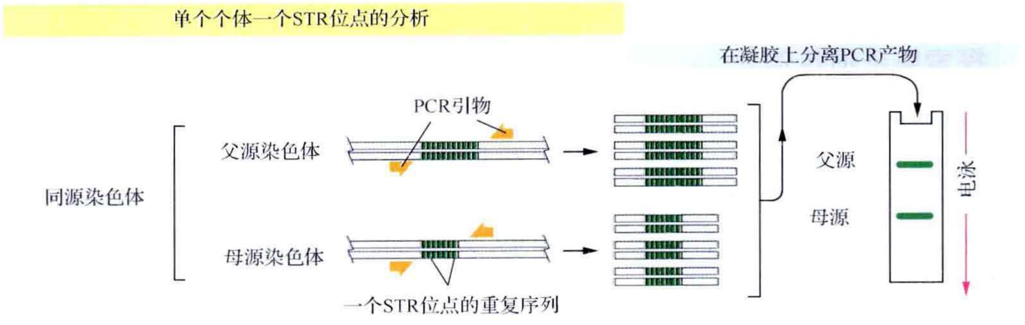
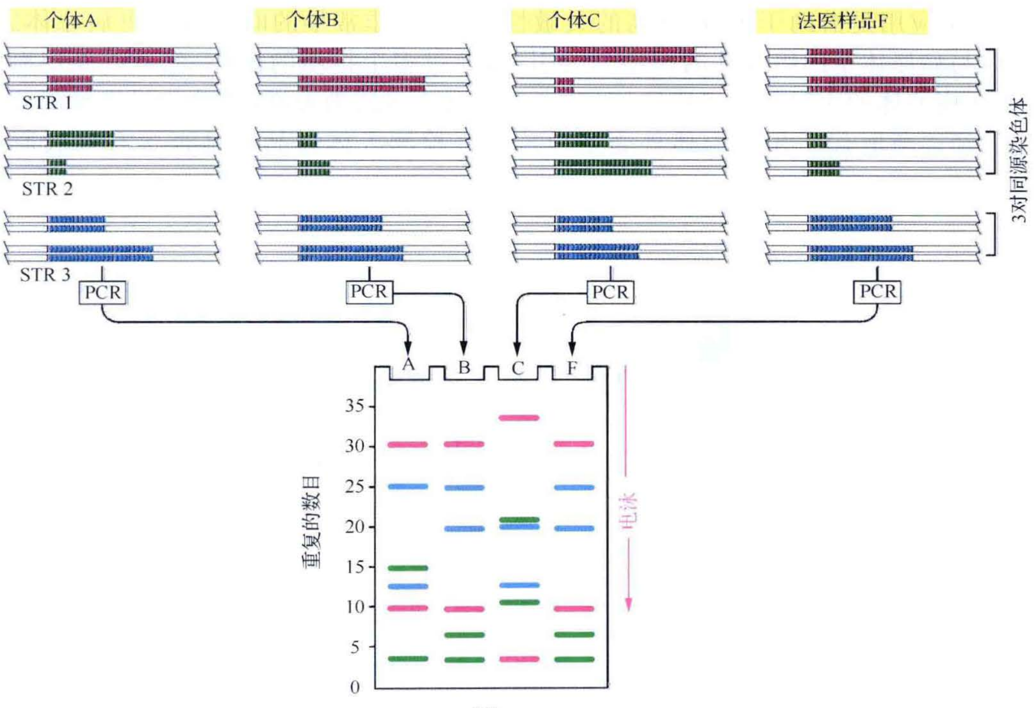


图 10-18　PCR 可以检测血样中是否存在病毒基因组。因为 PCR 能够从单个核酸分子中大量扩增信号，所以它是一种无需纯化就可以在血液或者组织中检测痕量病毒的极其灵敏的方法。例如，HIV，也就是导致艾滋病的病毒，它的基因组是单链的 DNA 分子。除了 HIV，现在许多感染人类的病毒都是这样检测的。

最后一个应用是 PCR 在法医学中有巨大的潜力。它极高的灵敏性使其能够用极少量的样品确定样品来源者的 DNA 指纹，如血和组织的微小痕迹，甚至可能是只含有单个细胞。每一个人都有一套区别于任何其他人的独特的基因组（同卵双胞胎除外）；因此用特殊的一对引物来扩增 DNA，得到的产物的序列很可能是因人而异的。用一组精心挑选的引物对，覆盖人基因组中已知高度变异部分，PCR 就能产生针对某个个体独特的 DNA 指纹（图 10-19）。



(A)



(B)

图 10-19　PCR 应用于法医学中的鉴定。(A)本例中分析的 DNA 序列是短串联重复元件(STR),由类似 CCACA 或者 GTGTGT 这样的序列组成,存在于人类基因组的多个位置(loci)。在人群中每个 STR 重复的数目是高度变异的,为 4～40。因为这些序列的变异性,个体常常会从其母亲和父亲身上遗传到不同的 STR 位点的变异体;因此两个没有血缘关系的个体通常含有两对不同的序列。每个个体利用涵盖位点两侧的引物进行 PCR 产生了两条带,一条代表母源的 STR 变异体,另一条则代表父源的 STR。扩增出的 DNA 的长度在电泳后的位置取决于该位点具体的重复数目。(B)本例的图示中,分析了三个嫌疑人(分别为 A、B、C)的三个 STR 位点,聚丙烯凝胶电泳后产生了 6 条带。虽然不同的人有几条带是相同的,但是每个人总的模式是完全不同的。因此这些带型的模式可以作为个体鉴定独特的指纹。第四个泳道(F)所含的是利用法医 DNA 样品进行的同样的 PCR 反应。DNA 可以来自于犯罪现场的一根头发或者微小的血斑。检测的位点越多,最后的结果越可信。当检测的 STR 位点在 5～10 个时,两个随机个体存在同样指纹的概率约为十亿分之一。在本例中,个体 A 和 C 通过问询被排除了,而 B 仍然是可疑对象。同样的方法现在已经作为亲子鉴定的常规手段。

10.3　探索解密遗传信息

本章到此为止,我们已经假定了我们所要研究的一个基因的功能是可以理解的,至少大体上的是这样的。但是假使你所发现的基因所编码的蛋白功能未知。你又如何来确定该蛋白的功能呢？既然基因组测序工程仅仅在 DNA 序列上快速的鉴定了许多新基因,这就成为细胞生物学中的比较普遍的问题。例如,在已经鉴定的人类 25 000 个基因中(参考**"我们如何得知"**),就有超过 10 000 个功能未知的基因。

到目前为止所提到的程序可以让生物学家在实验室中得到大量易于操作的 DNA。不管是存在于 DNA 文库中的片段还是保存在试管底部的 PCR 产物,这些 DNA 为可能为最令人振奋的实验提供了原材料:这些实验被设计为揭示单个基因——以及它们所编码的 RNA 和蛋白质——是如何在活的生物体内发挥作用的。

在这一点上,生物学家可以尽可能地发挥想象力,因为有多少个想要解决这个问题的科学家就会有多少种解决基因功能问题的方法。研究者用于探索基因活性的技术常常取决于他们的背景和训练:遗传学家可能会选择基因活性被破坏的基因工程突变生物体;生化学家可能会

大量制备该基因的蛋白产物来确定其酶活性和三维构象;而那些倾向于计算的人会首先查找计算机数据库中具有相似序列或者表达模式的基因。尽管这些方法在技术和所需的仪器方面有所差别,但是它们共同的目的都是寻找基因在细胞或者组织中发挥作用的线索。

在本节中我们会阐释一些研究基因功能的方法。因为所有这些方法都始于一个基因的序列,所以我们首先讲述对一段 DNA 进行测序的技术。然后,我们会讨论科学家们是如何通过这些序列开始解码其中的信息。接下来,一旦我们得到了一个基因序列,我们又是如何利用重组 DNA 技术产生足够的 RNA 或者蛋白质来进行结构和功能研究。最后,我们会描述在一个细胞、组织、甚至一整株植物或一个动物的水平上来研究基因的功能。这些方法已经革命性地为细胞生物学的各个方面提供了研究基因、RNA 分子及蛋白质功能的新方法。

10.3.1 DNA 快速测序方法

20 世纪 70 年代末期,研究者们建立了快速而简单的方法,用于测定纯化后的 DNA 片段的核苷酸序列。这些技术已经能够确定成百上千个基因及许多物种全部的基因组序列,包括出芽酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、秀丽线虫(*Caenorhabditis elegans*)、果蝇(*Drosophila melanogaster*)、模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、狗、大鼠、黑猩猩、大猩猩及人类。

许多种测序方法已经建立了起来,但是最常用的还是**双脱氧 DNA 测序法**,这种方法是基于体外进行的 DNA 合成反应,该反应在具有链末端终止特性的双脱氧核苷三磷酸存在下进行。应用这项技术,DNA 聚合酶只合成所测序列的部分拷贝。这些 DNA 复制反应的特殊条件使得新合成的 DNA 链在到达某一个既定的核苷酸时终止(A、G、C 或者 T)(图 10-20)。最终这些

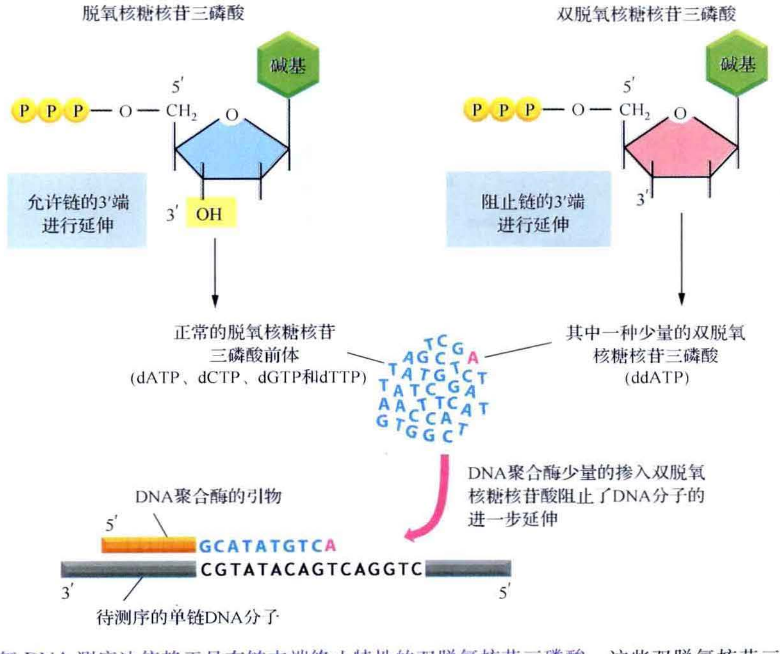


图 10-20 双脱氧 DNA 测序法依赖于具有链末端终止特性的双脱氧核苷三磷酸。这些双脱氧核苷三磷酸是正常的脱氧核苷酸的衍生物,缺少 3′端的羟基。纯化的 DNA 是在试管中的混合物中合成的,在这个混合物中包括被测序的单链 DNA 分子(灰色)、DNA 聚合酶、起始 DNA 聚合酶复制的短 DNA 引物(橘红色),以及 4 种脱氧核苷三磷酸(dATP、dCTP、dGTP、dTTP:蓝色的 A、C、G、T 表示)。如果核苷酸混合物种也存在其中一种核苷酸的双脱氧类似物(本例为红色的 ddATP),它就可以被嵌入到延伸的 DNA 链中。这样链的 3′端就缺少了羟基,随后的核苷酸的添加就被封闭,DNA 链也就在该位点终止。双脱氧 ATP(红 A)是与过量的正常的脱氧 ATP(蓝 A)竞争,这样 ddATP 就被随机地嵌入到延伸的 DNA 链中。这样反应混合物会产生一组长度不同的 DNA,它们均与被测序的模板 DNA 互补,但是在其每个不同的 A 位点处终止(图 10-21)。此处只显示了许多可能产物的一种。

反应产生出一系列不同拷贝，对应原始 DNA，在每个位置上都有终止，因此长度上只相差单个碱基。凝胶电泳将这些 DNA 拷贝依据它们长度的不同而分开，通过查看凝胶上这些片段的顺序而得到原始 DNA 的核苷酸序列(图 10-21)。

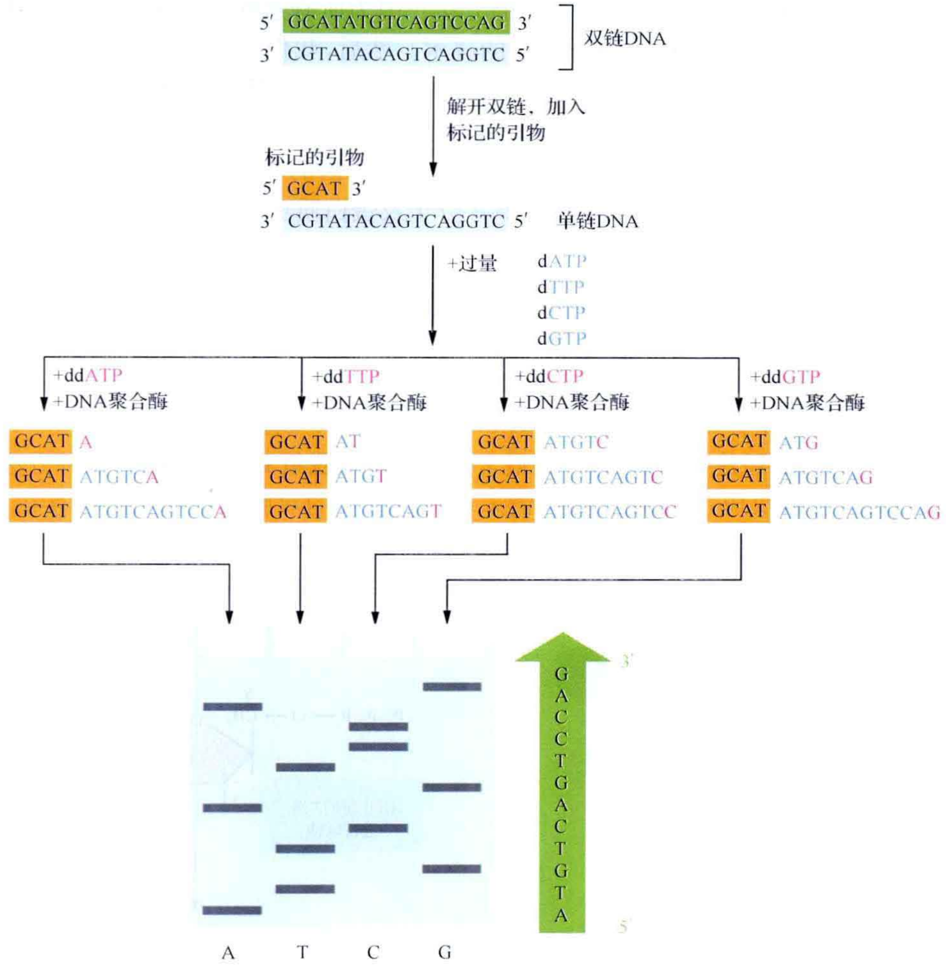


图 10-21　双脱氧法产生一系列相差单个碱基的 DNA 分子。为了确定一段 DNA 完整的序列，双链 DNA 需先分离成单链然后以其中一条链作为测序的模板。同一条单链 DNA 模板(灰色)的 4 个 DNA 合成反应中分别加入 4 种不同的链终止所用的双脱氧核苷三磷酸(ddATP、ddCTP、ddGTP、ddTTP，红色表示)。每个反应产生了一组在序列不同位置终止的 DNA 拷贝。4 个反应的产物在聚丙烯酰胺凝胶的 4 个平行泳道电泳分离(此处标记为 A、T、C 和 G)。新合成的片段通过标记(放射性或者荧光标记)进行检测，这些标记是在 DNA 链延伸过程中通过引物或者其中一种脱氧核糖核苷酸嵌入其中的。每条泳道中的条带代表给定末端的核苷酸(如最左边的条带是 A)但位置不同的 DNA 片段。通过按顺序读取这些条带，即从胶的底部往上数所有的泳道，新合成的 DNA 链的序列就被确定了。在胶的右侧的绿色箭头上标示的序列，就是原始的双链 DNA 中 5′→3′那条链(绿色)的序列。

虽然今天依然在用同样的方法，但是已经进行了很多改进。现在 DNA 测序已经完全自动化：机器人设备可以完成混合试剂、上样、电泳，以及从凝胶上读取核酸碱基序列。这个过程得益于使用不同颜色荧光标记的链终止核苷酸；所有的 4 个合成反应可以在同一个试管中进行，而产物也可以在凝胶的同一个泳道中分离。靠近凝胶底部的检测器读取并记录经过该装置的每条带的荧光颜色，计算机存储这些序列用于随后的分析(图 10-22)。我们将在**“我们如何得知”**中讲述研究者是如何利用这些信息拼接出完整的序列。

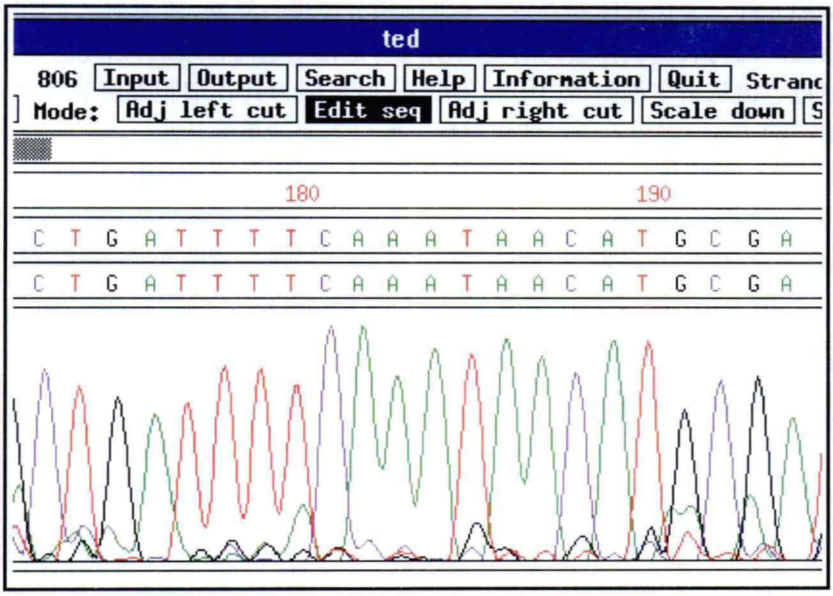


图 10-22 现在DNA测序已经完全自动化。这里显示的是自动测序仪的电脑屏幕上出现的一小段数据。每个有色的峰代表了DNA序列上的一个核苷酸；相对于起始序列位置的173点和194点之间清晰的一串DNA序列就可以被读出来。这个例子是取自一个确定拟南芥植物基因组的国际项目中的数据。(蒙George Murphy允许)

当然，获得一个基因或者整个基因组的序列只是一个开始。正如我们在前面的章节中讨论过的，通过核苷酸序列去确定一个基因从哪里开始到哪里结束，而哪一段又对它的功能有重要的调节作用是一件非常困难的事情。即使有了这些信息，也不一定能够说出该基因在生物体的生理条件下起什么样的作用。为了弄清楚这些，生物学家需要对每个基因进行更直接的操作。

10.3.2 全新的DNA分子可以被构建出来

研究基因的功能常常要涉及重组DNA分子的构建。如我们所讨论过的，这些重组分子一般是需要DNA连接酶将两条DNA片段连接起来，包括来自不同生物体的DNA或者化学合成的DNA分子(图10-6)。通过重复的DNA克隆，任何来源的DNA都可以被分离出来，并且以不同的组合连接在一起产生出想要的任何序列的DNA分子(图10-23)。

这种能够产生自定义的DNA分子的能力使科学家们能够以许多更有效的方式对基因进行操作。他们可以引入突变而改变基因的活性，这种方法可以揭示基因的正常功能。他们也可以制作杂合蛋白。例如，将一个荧光标记蛋白连接在所研究的蛋白质上。这种融合蛋白使科学家们能够看见其在细胞或者生物体内的位置。最后，科学家们对重组技术最直接的实际应用就是可以大量生产在细胞中很少表达的蛋白质，我们将在下面进行讲述。

10.3.3 应用重组DNA可以大量生产稀有蛋白质

在一个真核细胞的上千种蛋白质中，绝大部分是非常少量的，包括许多有非常重要功能的蛋白质。对于这些蛋白质，要得到研究它们的足够量的纯化物，即使有可能也是极其困难的。DNA克隆及遗传工程对细胞生物学最重要的贡献之一就是能够几乎无限量的生产任何蛋白质，包括稀有的蛋白质。

这种高产是通过特殊设计的被称为表达载体的质粒完成的。与前面提到的克隆载体不同，这些载体包含合适的转录和翻译信号，能够使插入的基因高表达(图10-24)。不同的表达载体被设计应用在细菌、酵母、昆虫或者哺乳动物细胞中，每一种都包含使其在这些细胞中转录和翻

译的合适的调控元件。表达载体随着每一轮的细胞分裂进行复制，使细胞培养能够合成非常大量的所需蛋白质。因为表达载体编码的蛋白质通常是在细胞内合成的，因此这些蛋白质必须在细胞裂解后通过色谱从宿主细胞蛋白中纯化出来；但是因为其在细胞裂解物中含量很高（通常占到细胞总蛋白的 1%～10%），所以纯化过程一般只需要简单的几步。

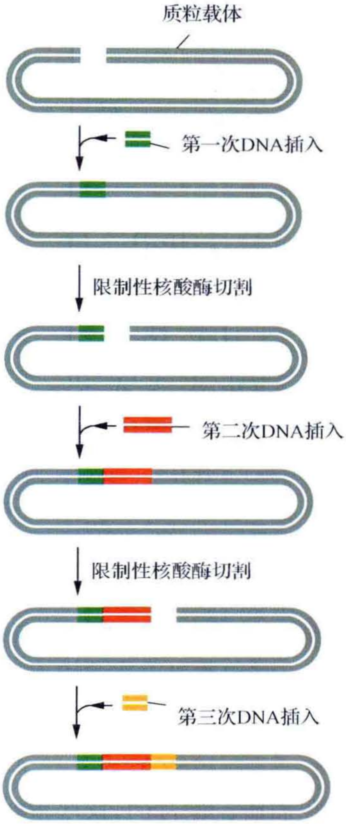


图 10-23　一系列的 DNA 克隆操作可以将一组不同来源的 DNA 片段拼接在一起。每一步 DNA 插入后，重组的质粒被克隆纯化并扩增出新的 DNA（图 10-10）。如图所示，重组分子接着被限制性核酸酶切开一次，而用作下一个 DNA 片段的克隆载体。

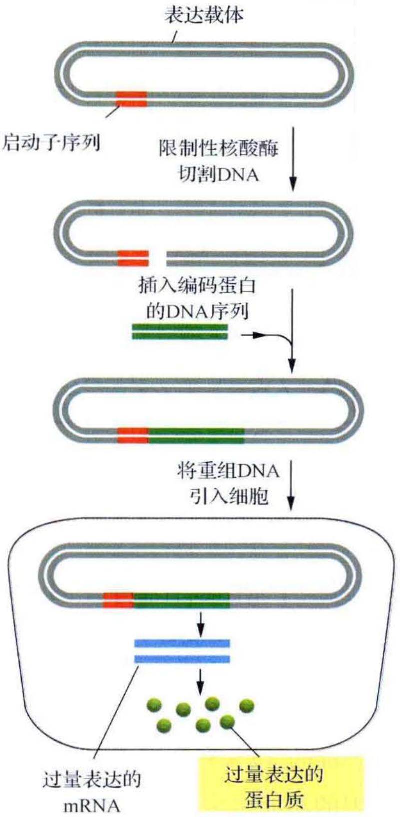


图 10-24　某一蛋白大量的产物可以通过将编码蛋白的 DNA 序列克隆入一个表达载体，然后再转入细胞而得到。一个质粒被改造成含有高活性启动子的载体，可以使插入到该启动子附近的蛋白编码序列产生大量的 mRNA。根据表达载体的特性不同，质粒被转入到细菌、酵母、昆虫或者哺乳动物细胞中，在那里插入的基因可以有效地转录并翻译成蛋白质。

我们如何得知：人类基因组测序

当 DNA 测序技术完全自动化之后，确定一段 DNA 的核酸序列的工作就从一个精细的博士论文项目变成了实验室的常规操作。将 DNA 放到测序仪中，再加上必要的试剂，就会出来所需要的结果：A、T、G 和 C 的顺序。

那么为什么人类基因组测序就成了如此艰巨的任务了呢？主要还是因为它的大小。今天的 DNA 测序方法受限于分离标记片段的凝胶的物理性大小（图 10-21）。一块胶最多也只能读几百个核苷酸。那么，包含数十亿个核苷酸的基因组又将如何处理呢？

解决方法就是将基因组打断，然后对这些小的片段进行测序。这样所面临的主要挑战是将这些短的片段正确地拼接在一起组成一整条染色体详细的序列，最终组成完整的基因组。为了完成这一断裂并重组的过程，研究者们大体上采取了两种不同的策略对基因组进行测序：鸟枪法和克隆到克隆的方法。

鸟枪法测序

对基因组测序最直接的方法就是将其打成随机的片段，对每一个片段进行测序，然后利用强大的计算机根据重叠序列的组装原则将这些片段连接起来(图 10-25)。这种方法称为鸟枪测序法。作为类比，想象将几本《细胞生物学精要》撕成小的片段，掺杂在一起，然后试着通过匹配不同纸条上出现的文字或者词组将一整本书的内容找回来(为了产生重新拼接所需的重叠，需要该书的几份拷贝)。这样做是可行的，而当这本书只有两页纸时就会变得非常简单。

鉴于此点，直接的鸟枪法只适用于对小的基因组进行测序。这种方法在 1995 年对一种感染性细菌流感嗜血杆菌进行测序时证明了它的价值，这种细菌是第一个被完整测序的生物。鸟枪法测序的问题在于重复序列会导致重新拼接过程中出错(图 10-26)。虽然这种序列在细菌中很少见，但是在脊椎动物的基因组中却占了很大的比例(图 9-29)。高度重复的 DNA 片段提高了精确拼接 DNA 序列的难度。重新回到《细胞生物学精要》的类比，单单本章就包含了数十个词组"人类基因组"。试想从书中撕下的一个纸片上写着："那么为什么对人类基因组进行测序"(出现在本节的开头)；而另一个纸片上写着："人类基因组测序委员会将鸟枪测序法和克隆到克隆的方法结合在一起"(出现在下一段)。基于重叠的词组"人类基因组"，你可能会倾向于把这两个片段结合在一起。但是你会陷于这样一句无意义的话："那么为什么对人类基因组测序委员会将鸟枪测序法和克隆到克隆的方法结合在了一起"。而且你可能会丢掉本来出现在这两个短语"人类基因组"之间几段重要的内容。

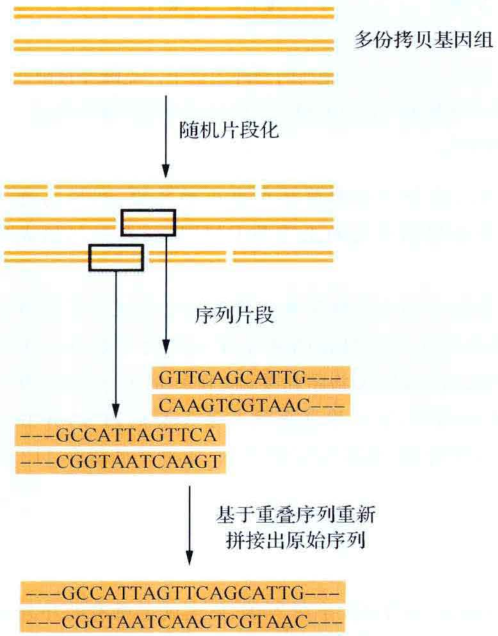


图 10-25　鸟枪测序法适于对小的基因组进行测序。首先基因组被打碎成小的互相重叠的片段。然后对每个片段进行测序，最终基于重叠的序列将整个基因组的序列拼接在一起。

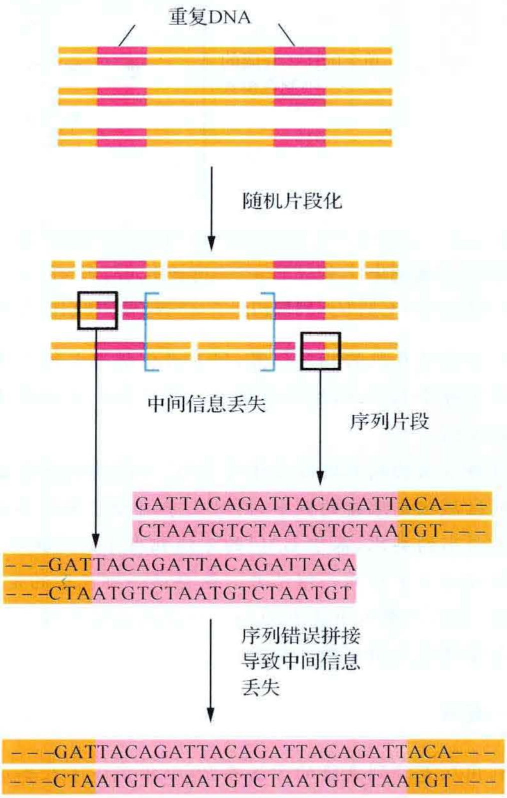


图 10-26　重复序列使得将序列正确拼接的难度增加。本例中，该 DNA 含有两个重复 DNA 的片段，每个都有几份拷贝的 GATTACA 序列。当对最终的序列进行校验时，来自不同部位的两个 DNA 片段看上去是重叠的。对这些序列不正确的拼接会导致原始的重复序列之间的信息(方括号间)的丢失。

而且那只是出现在本节中的情况。“人类基因组”这个短语几乎在这本书的每一章中都出现了。这些重复使得将每个片段放置到正确的上下文中变得更加复杂。为了克服这些重新拼接的问题，人类基因组委员会的研究者们将鸟枪测序法和克隆到克隆的方法结合在了一起。

克隆到克隆的方法

采用这种方法，研究者首先要制备基因组文库。他们把人类基因组打断成大小为100～200 kb的重叠片段。然后将这些片段装到BAC中(细菌人工染色体)，并转化到大肠杆菌中(BAC与本章前面讨论的细菌质粒类似，除了它们可以携带更大片段的DNA)。随着细菌的分裂，BAC也被复制，因此产生了重叠克隆片段的集合(图10-11)。

然后研究者们将这些DNA片段在基因组上正确的位置作图。为达到这一目的，科研人员利用限制性核酸酶在每个克隆上留下一个“签名”(图10-27)。每个片段上的酶切位点使得研究者们能够将每个BAC与整个人类基因组的限制性图谱对应起来。

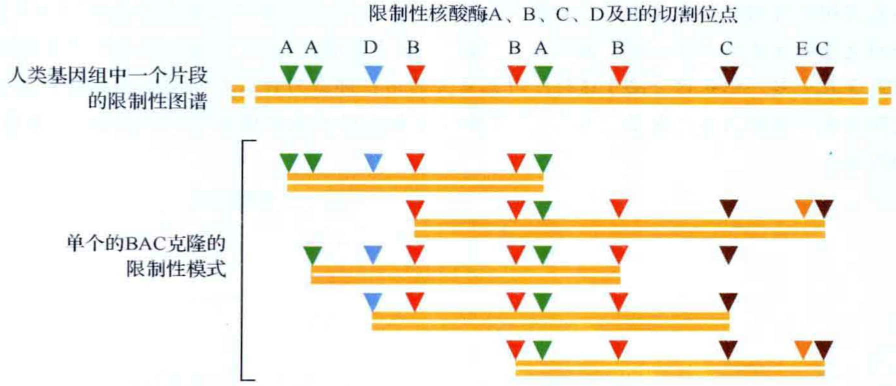


图10-27 单个的BAC克隆通过它们的限制性酶切“签名”被定位到人类基因组序列的物理图谱上。克隆经过限制性内切酶消化后，记录下每个克隆被不同酶切的位点。这种独特的限制性位点的模式使得研究者们能够排列这些片段，并将它们放回到最初产生这些限制性图谱的人类基因组中去。

已知克隆片段的相对位置，研究者们挑选大约三万个BAC，将每一个都剪接成更小的片段，利用鸟枪法分别确定每条BAC的核苷酸序列。然后他们可以将涵盖整个基因组长度的上千条BAC编织在一起组成完整的基因组。

这种方法的精彩之处在于将BAC片段精确地放置在基因组中相对比较简单。作图的过程减少了含有重复序列区域被错编排的概率，同时几乎消除了来自不同染色体的序列被错误的连接在一起的可能性。再次回到教科书的类比，基于BAC的方法相当于首先把你手中的几份《细胞生物学精要》按页面分开，然后把每一页剪接成自己单独的一堆纸片。这样第一堆包含的是第一页的内容，第二堆包含的是第二页的内容，并且以此类推，然后把整本书重新组合在一起就会简单得多。并且这样的话，就不太可能把40页的一句话和412页的一句话错误地拼接在一起。

现在一起来

利用从克隆到克隆的方法在2000年完成了人类基因组的第一张草图，并在2004年完成了所有的序列测定。作为构建一个人类所需的RNA和蛋白质分子的蓝图，这串遗传字符隐藏着人类的发育、生理和医学的秘密。人类基因组序列同样对那些热衷于比较基因组学和其他生物体的生理学的研究者们具有极高的价值：它已经使得其他哺乳动物基因组序列的装配变得简单了，如小鼠、大鼠、狗及其他灵长类，同时它为确定个人的基因组序列提供了框架，只需要将新的序列简单地叠加在上面即可。因此人类基因组序列可能是我们以这种井井有条并极为详细的方式测序的唯一的哺乳动物。由于人类基因组计划，我们开始得以一睹我们物种自身如此高的分子多样性。

现在这项技术被用于大量生产许多种药用蛋白质。例如，Ⅷ因子蛋白，现在已经能够从遗传工程改造的哺乳动物细胞培养中进行商业化的生产，因而避免了病毒的污染。其他许多种蛋白质，如激素(胰岛素)、生长因子、抗癌试剂，以及用做疫苗的病毒外壳蛋白，都是以这种方式生产出来的。

表达载体的应用也让科学家们能够完成曾经不可能的任务，生产大量感兴趣的蛋白质进而对其详细的结构和功能进行研究。有了大量的蛋白质，科学家们可以分析它们的生物学及生化活性，甚至生长出可以用作X射线晶体衍射解构三维信息的晶体(参考**"我们如何得知"**)。重组DNA技术使科学家们能够从一个未知功能的蛋白质开始，分离出编码它的基因，然后生产出足够的蛋白质来研究它的结构和活性(图10-28)。

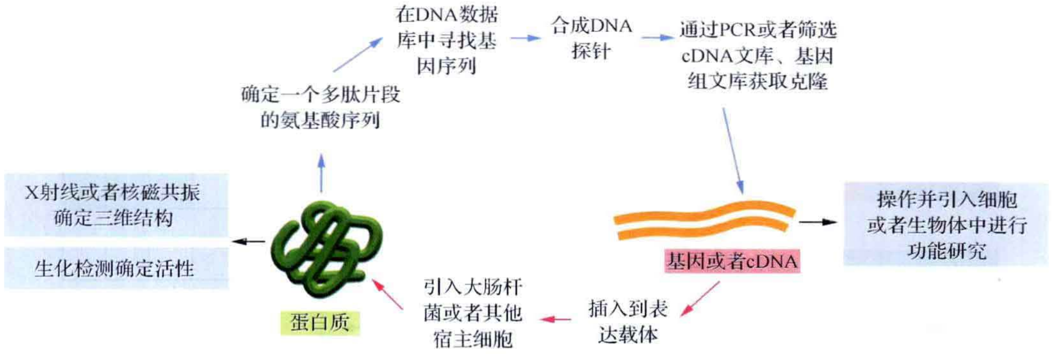


图10-28 重组DNA技术使实验上从基因到蛋白和从蛋白到基因都成为可能。从少量的纯化蛋白可得到部分的氨基酸序列。这为通过DNA杂交从DNA文库中挑出(图10-12)或者应用PCR从基因组中克隆扩增出其相对应的基因(图10-17)提供了序列信息。一旦该基因被分离并测序，它的蛋白编码序列就可用于设计一个DNA分子，然后在遗传工程化细胞中该分子产生大量其基因的蛋白质产物(图10-24)。这样就可以在生化或者结构上研究该蛋白质了。除了产生蛋白质之外，该基因或者DNA还可以经过操作后转入到细胞或者生物体内研究其功能。

10.3.4 报告基因及原位杂交可以揭示基因的表达的时空

仅仅知道一个基因完整的序列甚至是三维结构都无法推导出该蛋白质的功能，除非它与一个功能已知蛋白质极其相近。许多蛋白质自身并没有明显的生化活性，比如那些构成细胞结构或者组成一个大的多酶复合物的蛋白质。即使那些已知活性的蛋白质(如蛋白激酶)在原则上也可能参与细胞内任意不同的通路；也就是说，仅通过其生化活性并不能清楚这些蛋白质在细胞内是如何发挥作用的。

在多数情况下，一个蛋白质的功能可以通过检测基因在细胞中或者在生物体这一整体中何时何地表达来研究。确定一个基因表达的模式和时间点可以通过将基因的调控区域与一个**报告基因**——活性易于检测的基因连接来实现。正如我们在第8章中详细讨论的，基因的表达是通过DNA调控序列来控制的，这段序列通常位于编码区的上游，但是自身不会被转录。这些调控序列控制一个基因在什么样的细胞中和在什么条件下表达，与此同时，也控制了报告基因的表达。报告蛋白产量的水平、时间点和细胞特异性反映了原始基因的功能和其调控序列的行为(图10-29)。在绝大多数情况下，报告基因的表达是通过追踪其蛋白质产物的荧光或者酶活性来监测的。

今天用的最多的报告蛋白是**绿色荧光蛋白(GFP)**，是使发光水母呈现绿色荧光的那个分子。在多数情况下，GFP基因可以简单地连接在编码感兴趣的蛋白质的基因的后面。通常，所产生的GFP融合蛋白行为上与原始的蛋白质相同，而它在细胞中或者生物体中的分布可以方

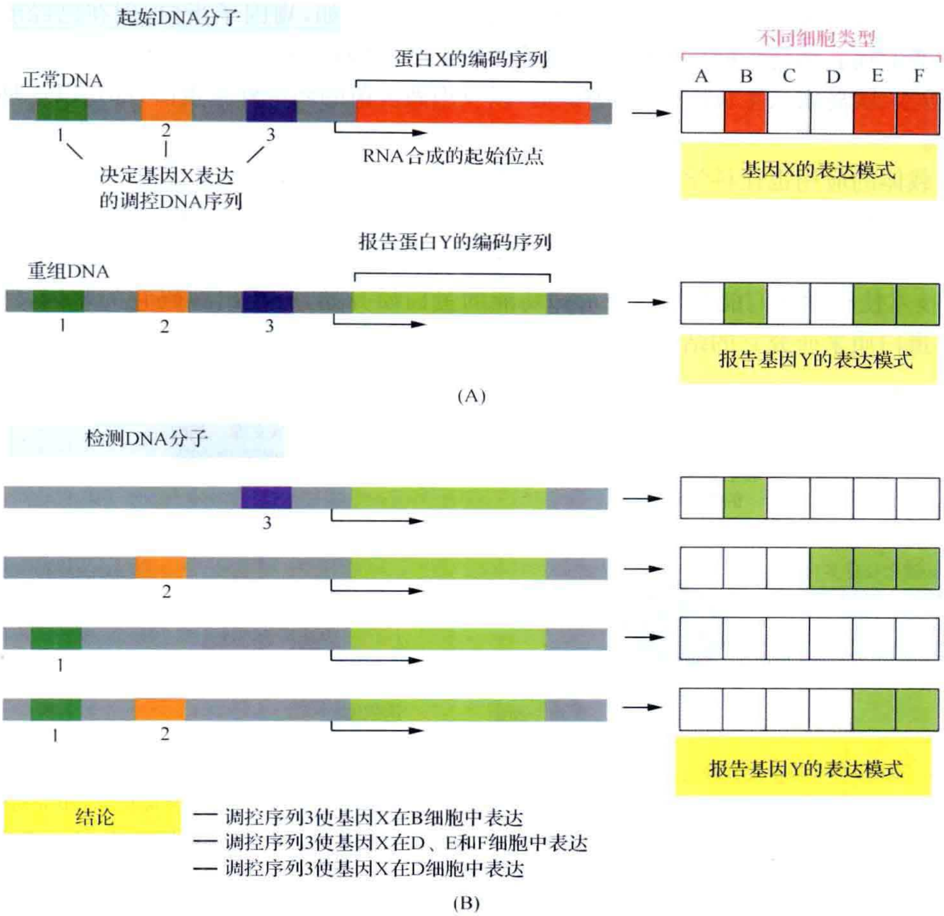


图 10-29　报告基因可以用于确定基因的表达模式。(A)假设我们想要了解哪种细胞类型表达 X 蛋白,而这种蛋白很难被直接检测。蛋白 X 的编码区于是被报告蛋白 Y 的编码区替换掉,而蛋白 Y 可以通过视觉观测,如某种荧光。现在蛋白 Y 的表达就被基因 X 的调控元件控制了(此处标记为 1、2 和 3)。(B)为了检测哪段调控元件控制了基因表达的细胞特异性,制备了多种调控区域与 Y 编码区的组合。这些重组 DNA 分子被转入不同类型的细胞中,然后检测它们的表达。在真核细胞的实验中,两种最常用的报告蛋白是 β-半乳糖苷酶(图 8-15C)和绿色荧光蛋白(GFP)(图 10-30)。

便的在显微镜下进行监测(图 10-30)。GFP 融合蛋白策略已经成为检测和追踪活生物体内任何感兴趣蛋白质分布和运动的标准手段。根据这些信息,生物体中蛋白质的功能得以了解。

直接观察基因表达的 mRNA 产物的时间和地点也是可能的。多数情况下,这种策略提供的是和报告基因方法大体同样的信息。但是在某些情况下,监测 mRNA 没有其他选择,例如,基因的最终产物是 RNA 而不是蛋白质。这项技术基于我们前面所提到的核酸杂交原理,被称为**原位杂交**(*in situ* hybridization,取自拉丁语"*in situ*",意思是"在原处"),因为该技术中特异的核酸序列仍然位于它们在细胞或者染色体上原始的位置上。

原位杂交利用被荧光染料或者放射性核素标记的核酸探针来检测细胞或者组织内某一特定的 RNA 或者 DNA 序列(图 10-31)。这项技术可以揭示基因表达的模式,而且让我们对胚胎发育的理解取得了巨大的进步,它可以让我们轻松地看到发育的胚胎中不同细胞基因表达的众多变化。原位杂交也可以指示出染色体中的某段特殊 DNA 序列。在这种情况下,探针与经过高 pH 短暂处理解开 DNA 双链后的全部染色体进行杂交。染色体上结合了标记探针的区域可以被显示出来(图 10-32)。在医学上,这项技术可以在怀孕早期检测携带异常染色体的婴儿。

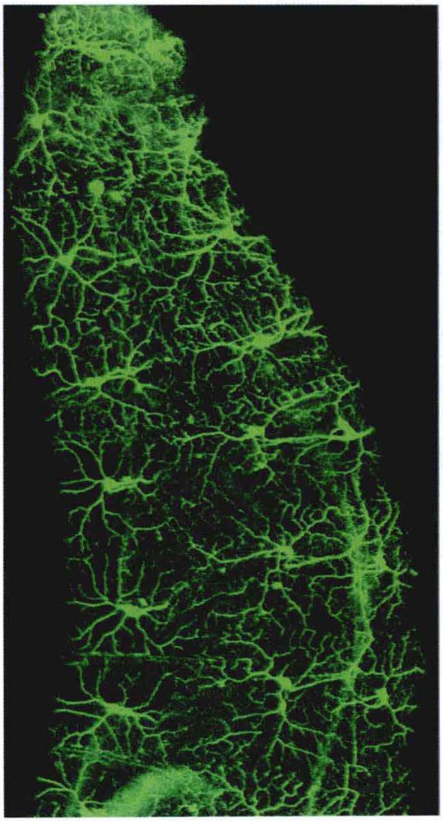


图 10-30　绿色荧光蛋白可用于鉴定活体动物中特定的细胞。该实验是在果蝇中完成的，GFP 与一个果蝇的启动子连接（通过重组 DNA 技术），该启动子只在一类特定的神经元中有活性。这是一张荧光显微镜下活体果蝇胚胎的图片，显示了大约 20 个神经元，每个都有与其他细胞（无荧光）通讯的长的突触（树突和轴突）。这些神经元就位于胚胎的表面，使得生物体能够感知周边环境变化。（引自 W. B. Grueber et al. ,*Curr. Biol.* 13:618-626，2003。蒙 Elsevier 惠许）

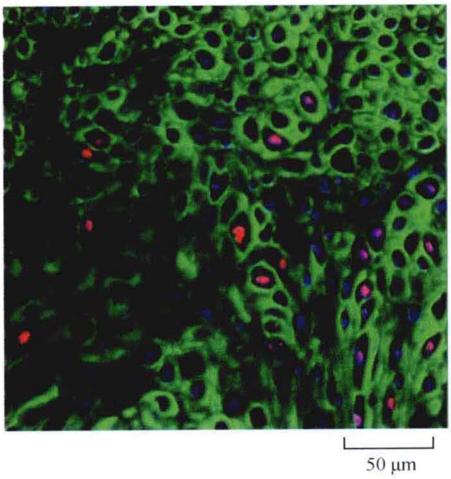


图 10-31　原位杂交可以检测细胞中的病毒。在这张显微图片中，感染了人乳头状瘤病毒（HPV）的上皮细胞核被识别这种病毒 DNA 序列的探针染成粉红色。所有的细胞核均被染成蓝色，尽管有些被感染病毒的细胞核的粉红色掩盖掉了。所有细胞的细胞质被染成绿色。（蒙 Hogne Røed Nilsen 惠许）

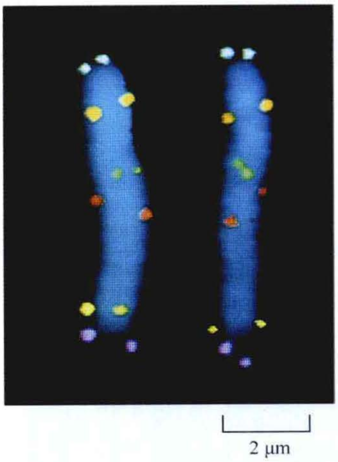


图 10-32　原位杂交技术用于在染色体上定位基因。本例中，6 个不同的 DNA 探针应用于定位各自在有丝分裂中期分离的人类 5 号染色体上的核酸序列（参考图 5-16，表 18-1）。DNA 探针是化学标记的，并应用针对该化学标记的荧光抗体来检测。并排在一起显示的是 5 号染色体来自母源和父源的一对同源染色体。每个探针在一条染色体上有两个点，因为有丝分裂的染色体已经复制了各自的 DNA，所以每条染色体含有两条相同的 DNA 双螺旋。该技术称为 FISH，是荧光原位杂交（fluorescence *in situ* hybridization）的简称。（蒙 David C. Ward 惠许）

10.3.5 DNA 微阵列杂交可以一次性检测上千种基因的表达

在第 8 章中我们讲到一个细胞只会表达其基因组中小部分的基因。核酸杂交最重要的应用之一就是确定在一个细胞群体中，哪些基因是被活跃转录为 mRNA 的，哪些又是转录沉默的。原位杂交技术只允许科学家们一次研究一个或者相对少的基因。但是，在 20 世纪 90 年代，研究者发明了一种新的工具叫做 **DNA 微阵列**，它一次可以检测成千上万个基因的 RNA 产物。通过同时检测这么多基因的表达，我们可以开始确定和研究在细胞生理条件下的基因复杂的表达模式，弄清楚在细胞生长、分裂，或者对激素、毒素、感染等发生应激时哪些基因开启(或关闭)。

DNA 微阵列只不过比显微镜的玻片稍大一点，但上面聚集着大量的 DNA 片段，每个都含有一段序列可以作为检测某一特定基因的探针。最密集的阵列在比一张邮票还小的地方聚集了成千上万个这样的序列，使得一次实验可以检测整个基因组的表达模式。某些类型的微阵列是通过机器人将对应整个基因组的 DNA 片段植于玻片上的。而另一种类型的则是在晶片上合成短的单链 DNA，其技术类似于在电脑芯片上蚀刻电路。不管是哪一种方法，每个 DNA 探针在芯片上的位置和序列是已知的。

利用 DNA 微阵列同时检测一个细胞内所有基因的表达，需要将 mRNA 从细胞中提取出来并逆转录成 cDNA(图 10-13)，随之被标记上荧光探针。微阵列与标记的 cDNA 样品一起孵育进行杂交反应(图 10-33)。然后，洗去阵列上未结合的分子，自动化的显微镜读取出通过碱基

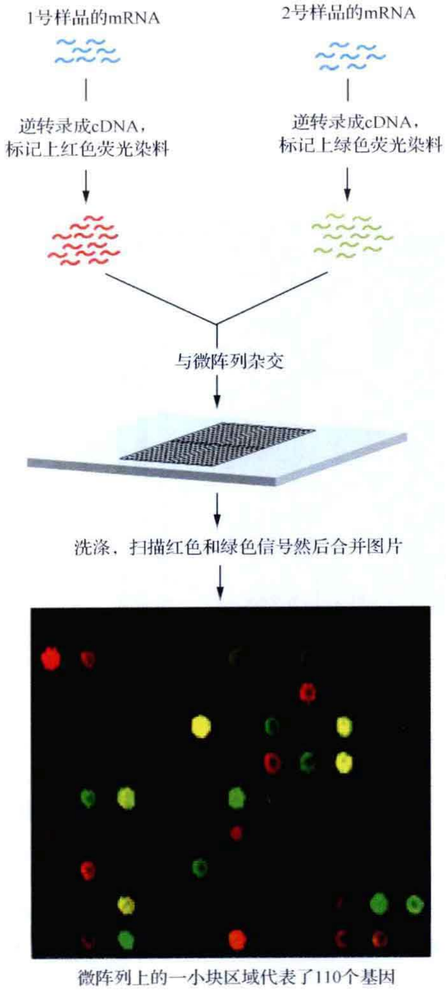


图 10-33　DNA 微阵列用于同时检测上千种基因的表达。本例中，从两个不同的细胞样品提取的 mRNA 用于比较它们基因表达的相对水平。例如，经过激素处理的细胞和未处理的同一种细胞。样品被逆转录成 cDNA 并标记，一个用红色荧光染料，另一个用绿色荧光染料。标记的样品混匀好，然后与微阵列杂交。孵育后，清洗阵列，扫描荧光。所展示的只是微阵列的一小部分，代表了 110 个基因。红点表示该基因在样品 1 中的表达水平高于样品 2。绿点表示该基因在样品 2 的表达水平强于样品 1。黄点表示基因在两个细胞样品中的表达水平相同。黑点表示阵列上该位置的基因表达很弱或者没有表达。

互补配对原则杂交的荧光标记的 DNA 片段的位置。通过这些位置信息去匹配每个位置植入的原始的特定基因。

DNA 微阵列已经应用于检测任何基因的变化,从使草莓腐烂的基因到人类不同类型癌细胞的遗传标记。通过比较人类癌症的基因表达谱,可以用于快速地区分不同的癌细胞。将这些表达谱信息与临床上收集的每种癌症的数据结合——包括迁移速度和对治疗的反应,就可能预测每一个特定的患者适用于哪种治疗方案。因此,癌症细胞基于微阵列的谱系信息将有可能为治疗这一常常致命的疾病提供了更精确和有效的手段。

10.3.6　遗传学方法可以揭示基因功能

细胞生物学家最终还是希望确定基因和 RNA 及它们所编码的蛋白质在完整的生物体中是如何发挥功能的。在基因克隆的时代之前,绝大多数的基因的功能是通过发现及研究突变生物体来研究的。依据这种经典的遗传学方法,研究总是从分离具有有趣的或者异常表型的突变体开始:如白眼或卷翅的果蝇。从**表型**(个体的外观或行为)向后推导来确定生物体的**基因型**(与性状相关的基因形式)。经典遗传学方法非常适用于那些繁殖迅速并易于在实验室中诱变的生物体,如细菌、酵母、线虫和果蝇。

重组 DNA 技术使得与之不同的一种遗传学方法成为可能。科学家可以从克隆一个基因开始并发展到在体外制造它的突变,而不是从随机产生的突变体开始去确定一个基因和它的蛋白质。然后,将改变的基因重新输回到其原始来源的生物体,就可以产生突变的生物体从而揭示出基因的功能。应用下面将要讲到的技术,可以改变一个克隆基因的编码序列从而改变蛋白质产物的特性或者甚至是将其全部去除掉。另一种可能是,改变基因的调控区从而改变蛋白质产量,或者让基因在不同于正常的细胞类型,发育的不同时间点进行表达。

通过体外操作 DNA 可以精确的引入突变,因此可以对基因进行非常轻微的改变。例如,我们常常需要改变基因编码的蛋白质中一个或者少数几个氨基酸。这项技术称为**定点诱变**,在图 10-34 中进行了概括。以这种方式改变选定的几个氨基酸,我们就能确定多肽链的哪部分对重要的过程,如蛋白质折叠、蛋白质-配体互作及酶的催化是至关重要的。而且,定点诱变可以让我们确定任意蛋白质每一部分的生物学功能。

10.3.7　动物可以进行遗传改造

为了研究在体外突变后的基因的功能,理想的方法是制造正常基因被突变基因取代的生物体。这样就可以在正常蛋白质缺失的情况下分析突变体蛋白质的功能。在多种生物体中,通过导入突变的 DNA 与染色体 DNA 间的同源重组可以轻易地完成这种**基因置换**(图 10-35A)。应用同样的策略,基因可以被完全去除,产生一个**基因敲除**(图 10-35B)。第三种可能是在基因组中添加突变基因,而在此过程中丝毫不改变正常基因(图 10-35C)。一个新的基因被引入,或者应用重组 DNA 技术使基因组改变的生物体,称为**转基因生物**或者*遗传修饰生物*(GMO)。

在有性生殖的生物体中,这些改变一般是在生殖系中进行的,也就是在生殖细胞中。然后这些转基因动物就会将这些改变的基因传递给它们至少一部分的子代,而成为其基因组中永久的部分(图 10-36)。技术上,现在即使是人的生殖系也可以这种方式进行改造,尽管由于许多伦理原因它是违法的。但是,正在探索以同样的技术修正人体细胞中的遗传缺陷。因为体细胞,如形成肝脏、胰脏、骨或者皮肤的细胞,只在一个人类个体内增殖而不会传递到子代中(图 9-3)。通过引入遗传修正的体细胞到疾病受累最重的组织中,一个遗传疾病可以被缓解甚至被治愈;但是,这些改变不会传递给他的子代。

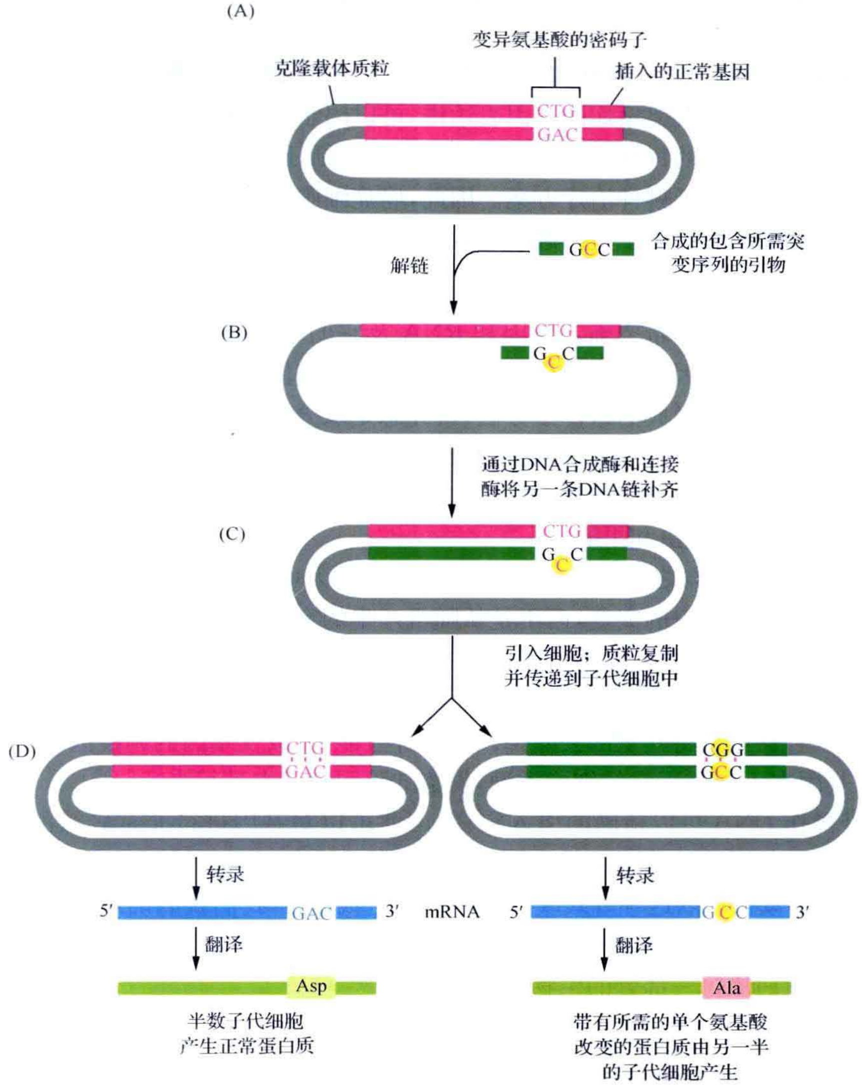


图 10-34　合成的 DNA 分子可以通过定点诱变修饰蛋白编码区域。(A)含有插入基因的重组质粒被分离为两条链。带有在既定位点改变了的单核苷酸的合成 DNA 引物被加入到单链 DNA 中，使其进行非完全匹配的杂交。(B)引物与 DNA 杂交形成单核苷酸错配对。(C)通过起始于该引物的体外 DNA 合成，以及 DNA 连接酶的修补，重组质粒恢复成双链。(D)双链 DNA 转化到细胞中进行复制。对其中一条链的复制产生一个正常 DNA 分子，而另一条链(带有引物的一条)则会产生携带有所要突变的 DNA 分子。子代的细胞中只有一半含有所要突变基因的质粒；但是，含有突变基因的子代细胞可以从其他细胞中被鉴定挑选出来，然后培养成纯化的细胞群，它们都带有突变基因。应用合适序列的 DNA 分子，一次可以进行多于一个氨基酸的替换，也就是一个或多个氨基酸被添加或去除。

转基因技术使得制造基因改变或者完全缺失某些基因的复杂生物体成为可能。例如，现在已经产生了许多基因敲除小鼠——某个特定基因被永久失活的小鼠品系。通过观察基因去除或者突变后的效果，常常能够推导出该基因的正常功能(图 10-37)。

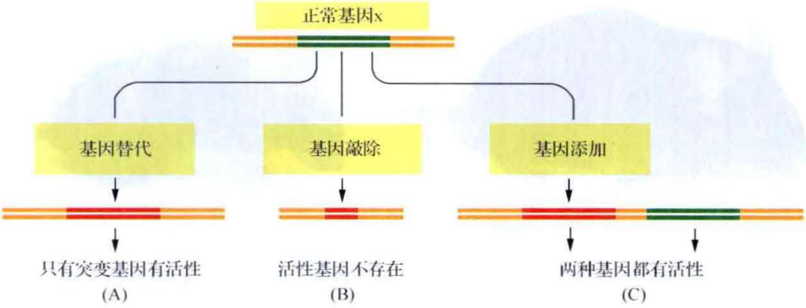


图 10-35 在遗传修饰的生物体中可以进行几种类型的基因改变。(A)正常基因可以完全被该基因的突变拷贝替换,该过程称为基因替换。这样可以在没有正常基因干扰的情况下检测突变基因的活性,从而确定微小或者微妙突变的效应。(B)正常基因可以被完全失活,例如,在基因内制造大的缺失;这种情况下,该基因可以称为被敲除掉了。这种类型的改变被广泛应用于在动物整体水平上获取正常基因的功能的信息。(C)一个突变基因可以简单地添加到基因组中。当引入的突变基因的功能覆盖掉正常基因的功能时,这种改变可以提供有用的信息。

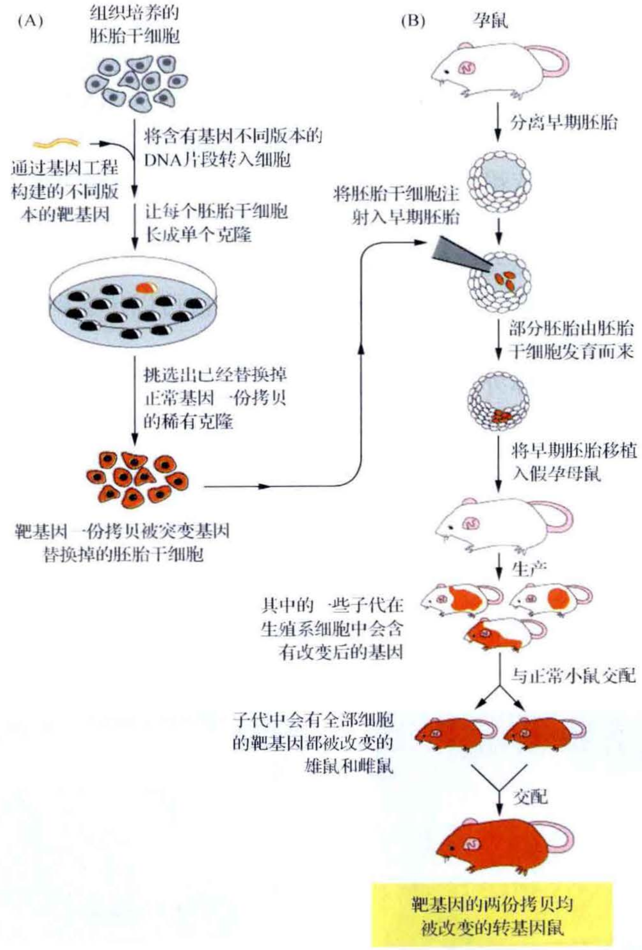
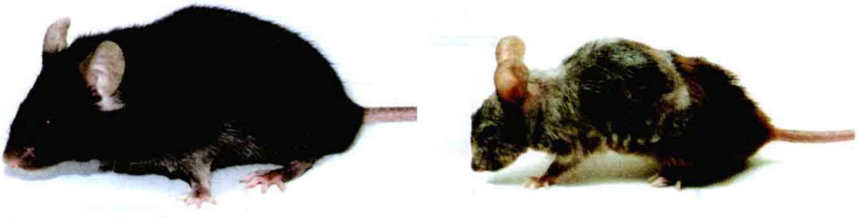


图 10-36 利用胚胎干细胞产生基因替代小鼠。第一步(A),突变的基因被转入到培养的胚胎干细胞中。在极少量的胚胎干细胞中,相对应的正常基因会通过同源重组被突变基因替换掉。尽管整个过程是十分费力的,但是这些少量的细胞可以被鉴定出来并进一步培养从而产生大量的子代,每个子代在其相对应的两个正常基因中有一个是被突变基因替换掉的。在下一步(B)中,这些胚胎干细胞被注射到非常早的小鼠胚胎中;这些细胞就嵌入到生长的胚胎中,由这样一个胚胎发育而来的小鼠的其中一部分体细胞(橘红色)就携带有该突变基因。其中一些小鼠的生殖系细胞会携带有突变基因。当与正常的小鼠交配后,其中的部分子代全身细胞都会携带该突变基因。如果两只这样的小鼠交配,它们的有些子代会在其所有细胞中携带两个这样的突变基因(一条染色体上一个)。如果最初的基因突变完全失活了该基因的功能,那么这些小鼠就被称为基因敲除小鼠。而更常见的情况是那些缺失了在发育过程具有功能的基因的小鼠会远在其成年之前就已死亡。



(A) (B)

图 10-37 具有 DNA 螺旋酶突变的转基因小鼠表现出早衰。螺旋酶是由 *Xpd* 基因编码，与转录和 DNA 修复有关。与野生型小鼠(A)相比，表达缺陷型 *Xpd* 基因的转基因小鼠(B)表现出了许多早衰的症状，包括骨质疏松症、消瘦、早花白、不育及寿命缩短。这里采用的 *Xpd* 的突变损坏了螺旋酶的活性而且模仿了造成人类毛发硫营养不良症的突变，该症状包括毛发易断、骨骼畸形，并且极大地降低了平均寿命。这些结果支持了这样一个假说，DNA 损伤的积累加速了人类及小鼠的衰老过程。(J. de Boer el al., *Science* 296:1276-1279, 2002。经 AAAS 出版商允许)

10.3.8 RNA 干扰为研究基因功能提供了简单的方法

在生物体中敲除一个基因并研究其结果可能是研究基因功能最强大的方法，但是还有一种更快捷更简单的方法，即在细胞和生物体中失活一个基因，称为 **RNA 干扰(RNAi)**。该方法利用了在种类繁多的动植物中存在的自然机制，该机制可以调控某些基因及破坏外来 RNA 分子(图 8-26，图 8-27)。这项技术依赖于向细胞或者生物体内引入双链 RNA 分子，其核苷酸序列与想要失活的基因匹配。一旦这种双链 RNA 被认为是外来的，细胞就会被诱导降解这些 RNA 及其所匹配的 mRNA。这些降解后的 RNA 小片段随后被用于产生更多的双链 RNA，进而引导目标 mRNA 持续的降解。因为这些短的 RNA 片段可以传递到子代细胞中，因此 RNAi 可以造成表达上可遗传的改变。

RNAi 经常用在哺乳动物体外培养的细胞系的基因失活。它也被广泛应用于在线虫中研究基因的功能。当对线虫进行操作时，引入双链 RNA 是简单的：RNA 可以被直接注射到小肠中，或者用工程改造的可以产生 RNA 的大肠杆菌进行喂养(图 10-38)。RNA 被散布到线虫的

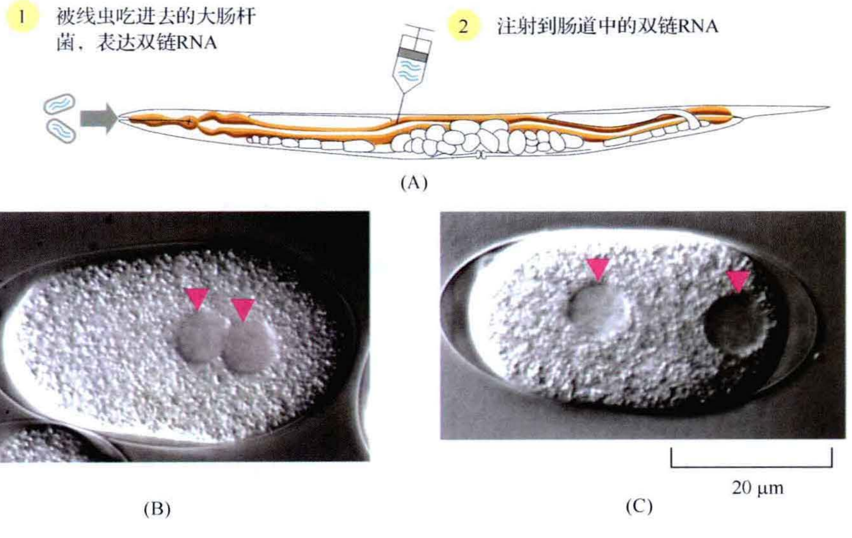


图 10-38 基因功能可以通过 RNA 干扰来研究。(A)双链 RNA(dsRNA)可以通过两种方式转入线虫中：(1)喂养表达 dsRNA 的大肠杆菌；(2)直接将 dsRNA 注射到动物肠道中。(B)在野生型的线虫胚胎中，受精后卵子和精子的原核(红箭头所示)立即聚集于胚胎的后半段。(C)在某一特定基因被 RNAi 失活的胚胎中，原核不再迁移。这一实验揭示了该基因先前未知的在胚胎发育中的重要功能。(B 和 C 来自于 P. Gönczy et al., *Nature* 408:331-336, 2000。经 Macmillan 出版商允许)

身体中，各种不同组织的靶基因的表达都会被抑制掉。由于线虫的完整基因组都已被测序，RNAi 将被用于线虫全部基因的功能确认。

10.3.9 转基因植物对细胞生物学及农业十分重要

虽然我们倾向于认为重组 DNA 研究属于动物生物学，实际上这些技术对植物研究同样产生了深远的影响。事实上，植物的某些特点使其更适用于重组 DNA 技术。

当一块植物组织培养在含有营养元素和合适的生长调节素的无菌培养基中时，一些细胞会自发的以无序的方式无限增长，产生了相对未分化的组织块，称为愈伤组织。如果小心地处理营养元素和调节素，我们就可以在愈伤组织中诱导出芽来，而在多数的物种中，这些芽中可以再生出一整株全新的植物。在一些植物如烟草、矮牵牛、胡萝卜、马铃薯及拟南芥，可以从这样的愈伤组织的单个细胞长成一小簇细胞，然后再生出一整株全新的植物(图 8-2B)。正如突变的小鼠可以从培养的胚胎干细胞中通过遗传操作来获得，那么转基因植物也可以从转染 DNA 的培养植物细胞中得到(图 10-39)。

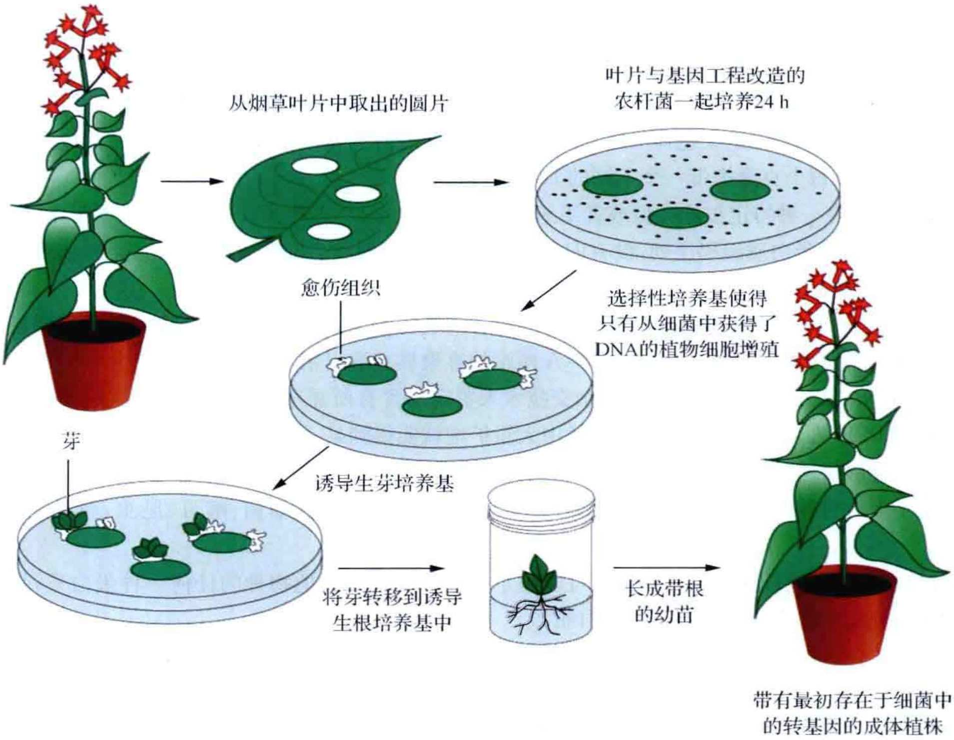


图 10-39 重组 DNA 技术可以产生转基因植物。从一片叶子上剪下一个圆片，与携带有重组质粒的农杆菌一起孵育，该质粒既有筛选标记也带有所需的重组基因。圆盘边缘受伤的细胞释放出吸引细菌的物质，使其将 DNA 注射到这些细胞中。只有那些吸收了相应的 DNA 并表达了筛选标记基因的植物细胞，才能够存活生长并形成愈伤组织。调整供给愈伤组织的生长因子可以诱导其形成芽，然后再形成根，最终成长为带有重组基因的成体植株。

转基因植物的产生极大地推进了植物细胞生物学的各个领域发展。例如，在分离生长调节因子受体、分析形态发生机制及植物的基因表达中均发挥了重要的作用。而且这些技术为农业开拓了新的领域，使农民和消费者可同时受益。例如，它们已经改造了种子中脂肪、淀粉和蛋白质的比例，提高了植物的抗虫抗病特性，以及培育了抗极端环境如盐沼地和水分胁迫的土壤。一些种类的大米经过遗传改造能够产生 β-胡萝卜素，该物质是维生素 A 的前体。如果能取代

传统大米，这种“金大米”——因为其外观是淡黄色——可以帮助缓解严重的维生素 A 缺乏症，该病每年会造成发展中国家成千上万名儿童的失明。

基本概念

- 重组 DNA 技术彻底地改革了细胞研究，使研究者们有可能任意地从细胞的几千个基因中挑出一个基因，并确定该基因精确的分子结构。
- 此技术的一个关键因素是限制酶能把大的 DNA 分子切割成特定的一系列 DNA 片段，每种限制酶只在一个特定的核苷酸序列位点切开 DNA 双链。
- DNA 片段可用凝胶电泳根据其大小分开。
- 核酸杂交能够在核酸片段混合物中检测出任何给定的 DNA 序列或 RNA 序列。此技术依赖于一个事实，即单链 DNA 或 RNA 只同与其核苷酸序列互补的核酸形成双螺旋。
- 用荧光染料或放射性核素标记序列已知的单链 DNA，可以作为杂交反应中的探针。
- 任意序列的短 DNA 链都能够在实验室中进行化学合成。
- DNA 克隆技术使我们能够从几百万个序列中，选出某个 DNA 序列并得到该片段无限量的纯化物。
- DNA 连接酶可在体外把一些 DNA 片段连接成自然界中不存在的重组 DNA 分子。
- 将 DNA 片段插入到可以进行复制的 DNA 分子如质粒中，然后将重组的 DNA 分子引入快速分裂的细胞，通常是细菌中，在每次分裂中该 DNA 均被复制。通过该方法这些片段可以得以保持完好并且进行扩增。
- 代表一个生物体完整基因组染色体 DNA 的克隆片段的集合称为基因组文库。文库通常以成千上万株细菌克隆的形式保存，每个克隆携带一个不同的 DNA 片段。
- cDNA 文库是含有一种特定细胞类型或者组织的总 mRNA 的 DNA 拷贝。与基因组 DNA 克隆不同，克隆的 cDNA 主要含有蛋白质编码序列，没有内含子、基因调控序列和启动子。当想将克隆的基因用于表达蛋白质时，它们是最适合的。
- 聚合酶链反应（PCR）是在体外利用纯化的 DNA 聚合酶进行 DNA 扩增的有力武器。PCR 需要已知被扩增 DNA 的序列，因为必需合成位于被复制 DNA 两端的寡聚核苷酸引物。
- 历史上，从 DNA 文库中克隆基因是通过杂交技术来鉴定出含有所需序列质粒的；现在，绝大多数基因的克隆只需利用 PCR 从 DNA 或者 mRNA 样品中大量扩增就能得到某一段特定的序列。
- 现在的技术能够快速确定任意一段 DNA 的核苷酸序列。
- 已经确定了上百种不同生物的完整基因组序列。其中包括细菌、古细菌、酵母、昆虫、鱼类、植物和哺乳动物。
- 细菌，酵母和哺乳动物细胞被工程改造后可以用于大量合成来自其他物种的任何一种蛋白质，从而使得科学家能够研究那些稀有或者难分离的蛋白质。
- 利用重组 DNA 技术，一个蛋白质可以与一个分子标签连接，如绿色荧光蛋白（GFP），可以在细胞内追踪其运动轨迹。以 GFP 为例，蛋白质可以在活的生物体内进行监测。
- 核酸原位杂交技术可以精确定位基因在染色体上的位置，或者 RNA 在细胞和组织内的位置。
- DNA 微阵列代表了一个同时进行大量杂交反应的平台，可以用于同时检测成千上万个基因的表达。
- 克隆的基因能通过重组 DNA 技术永久性地插入到细胞的或者生物体的基因组中。克隆的基因在可以体外进行改造以产生突变的基因，然后再重新插入到细胞或者生物体中以研究基因的功能。
- 研究基因功能最直接的方式就是将其从生物体的基因组中敲除，然后研究该敲除对生物体外观和行为的影响。
- 细胞或者生物体内特定基因的表达可以通过 RNA 干扰（RNAi）的技术加以抑制，它能够防止一条mRNA翻译成蛋白质。

关键词

cDNA	RNA 干扰(RNAi)	基因替代	限制性核酸酶	重组 DNA 技术
DNA 克隆	报告基因	基因型	原位杂交	转化
DNA 连接酶	表型	聚合酶链反应	杂交	转基因生物
DNA 微阵列	定点突变	绿色荧光蛋白	质粒	
DNA 文库	基因敲除	双脱氧 DNA 测序	重组 DNA	

问题

问题 10-1 DNA 测序显示，你自己的两个 *β-globin* 基因(来自 11 号染色体的两个拷贝)中，其中一个含有一个突变。仅仅根据这条信息，你是否应该担心自己会成为某种遗传疾病的携带者，并传递给你的子女？要评价这种风险，你还需要哪些其他信息？

问题 10-2 左图中的双链 DNA 分别被(A)*Eco*RⅠ，(B)*Alu*Ⅰ，(C)*Not*Ⅰ酶切或者(D)三种酶一起酶切的产物是什么？(这些酶的切割位点见图 10-2。)

问题 10-3 讨论以下表述："运用遗传密码子，可以从一个 cDNA 克隆的核苷酸序列推导出某一蛋白质全部的氨基酸序列，所以蛋白质生物化学就变得多余，因为研究蛋白质我们不能得到更多的信息。"

问题 10-4

A. 如果图 1-16 中的 PCR 扩增反应增加 2 个循环，标记为灰色、绿色、红色或者黄色的 DNA 片段各会增加多少？如果增加更多的循环，哪一种片段的占比会最多？

B. 假设你开始从一个双链 DNA 分子中扩增一条 500 bp 的片段。大约经过多少个循环后你能够得到 100 ng 这样的 DNA？100 ng 是 DNA 荧光染色后比较容易检测的量。(提示：对于该计算，你应该知道每个核苷酸的平均分子质量是 330 g/mol。)

问题 10-5 如图 1-34，要在体外制造 DNA 的一个错配突变。当含有错配的质粒被转入细胞中之后，你认为这种错配会不会被 DNA 错配修复酶(图 6-22)识别并修复？这会不会影响定点诱变过程？请解释。

问题 10-6 如果双脱氧核苷三磷酸与脱氧核苷三磷酸的比例上升，DNA 测序反应的结果是什么？而这一比例下降后结果又是什么？

问题 10-7 一个动物个体中几乎所有细胞的基因组都是相同的。在一项实验中，一个由不同类型的细胞构成的组织被固定后进行原位杂交反应，所用的 DNA 探针针对某一特定的基因。出乎你的意料的是，杂交信号在某些细胞中要强于其他细胞。你怎么解释这一结果？

问题 10-8 经过了几十年的工作，M. Ricky 医生从好莱坞名人的头发样品中分离了少量的吸引酶——一种能够产生强烈的人类信息素的酶。为了能够将这种吸引酶为其所用，他得到了该酶完整的基因组克隆，把它连接在一个表达质粒中很强的细菌启动子后面，并转化到大肠杆菌中。他绝望的发现在这些细胞中没有任何的吸引酶产生。对他失败的合理解释是什么？

问题 10-9

下面那些表述是正确的？请给出你的解释。

A. 限制酶总是在基因之间的特定位点上切割 DNA。

B. 电泳时 DNA 向正极移动。

C. 从 cDNA 文库中分离出来的克隆包含启动子序列。

D. PCR 利用了热稳定的 DNA 聚合酶，因为扩增的每一步中双链都 DNA 必须加热变性。

E. 用识别 4 个核苷酸序列的 *Alu*Ⅰ酶切基因组 DNA，将产生长度恰好是 256 个核苷酸的片段。

F. 构建 cDNA 文库需要用到 DNA 聚合酶和逆转录酶。

G. PCR 指纹图谱是基于不同的个体在他们基因组内 STR 区域中的重复序列数目的不同。

H. 一个基因的编码序列存在于从一个特定组织制备的基因组文库中，但可能不存在于同一组织来源的

cDNA 文库中。

问题 10-10

A. 图 Q10-10 所示的测序反应的 DNA 序列是什么？4 条泳道显示了含 ddG(泳道 1)、ddA(泳道 2)、ddT(泳道 3)、ddC(泳道 4)的测序反应的产物。放射自显影右边的数目代表了第 50 和 116 个核苷酸的位置。

B. 此 DNA 来源于哺乳动物蛋白质 cDNA 克隆的中间部分，参考图 7-24 的遗传密码子表，分析这部分蛋白质的氨基酸序列是什么？

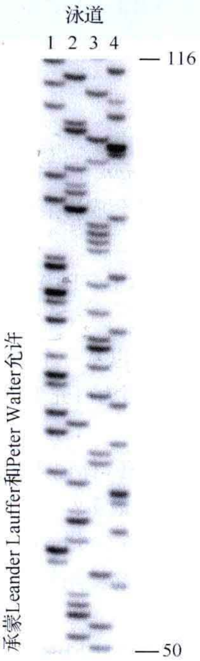


图 Q10-10

问题 10-11

A. 如果你用 *Hae*Ⅲ切割人基因组 DNA，预计会得到多少种不同的 DNA 片段？（回忆每个单倍体基因组有 3×10^9 个核苷酸对。）如果用 *Eco*RⅠ或 *Not*Ⅰ切割，又能得到多少种片段呢？

B. 用来进行测序的人基因组文库经常是用 *Hae*Ⅲ不完全切割人 DNA 得到的片段构建的，也就是说，并不是所有的 *Hae*Ⅲ位点都被切割。这样做一个可能的原因是什么？

问题 10-12 一个双链 DNA 分子被三种不同的限制酶切割，切割产物通过电泳分离(图 Q10-12)。已知大小的 DNA 片段在同一块胶上电泳作为分子量标记(左边泳道)。分子量标记的大小以千核苷酸对(kb)来表示，1 kb=1000 bp。利用分子质量标记作为指导，估计得到的限制性片段的大小。请根据此信息推断出原始的 DNA 分子的图谱，并标明限制性酶切位点的相应位置。

问题 10-13 你已分离到少量稀有的蛋白质，并用蛋白酶将此蛋白质切割成几个片段，用层析法分离出一些片段并测定它们的氨基酸序列(如图 5-6 描述)。很遗憾，和通常从少量蛋白质开始的情形一样，你只从蛋白质中得到三种氨基酸小片段：

1. Trp—Met—His—His—Lys
2. Leu—Ser—Arg—Leu—Arg
3. Tyr—Phe—Gly—Met—Gln

A. 利用遗传密码子(图 7-24)，设计针对每个多肽的一组寡聚核苷酸探针，用于在 cDNA 文库中杂交检测出这个基因。三种寡聚核苷酸探针中，优先使用哪一种？请解释。（提示：遗传密码是冗余的，所以每个多肽可能有几个潜在的编码序列。）

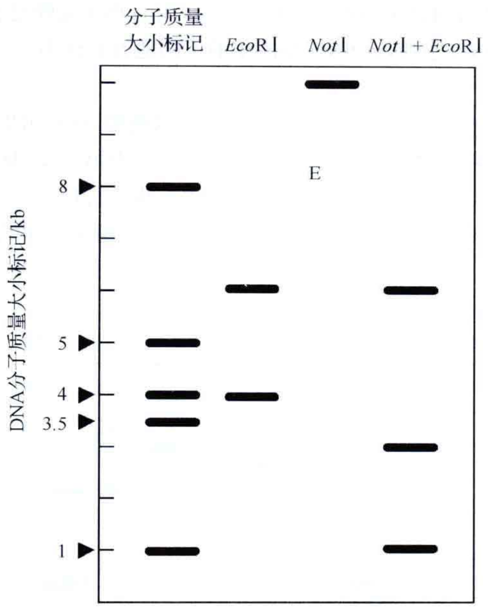


图 Q10-12

B. 你还能确定＃3 肽链的 Gln 是你的蛋白质的 C 端(最后一个)氨基酸。你将怎样设计寡聚核苷酸引物，利用 PCR 从 cDNA 文库扩增出该基因部分序列?

C. 假定(B)中的 PCR 扩增产生了一个恰好 300 个核苷酸的 DNA。在确定 DNA 的序列时，你发现序列 CTATCACGCTTTAGG 大约在中间。从这些观察结果中你能得到什么结论?

问题 10-14 假设一个 DNA 测序反应如图 10-21 进行，只是 4 种不同的双脱氧核糖核苷三磷酸被修饰，从而每一种含有一个共价连接的不同颜色的染料(这并不妨碍它掺入 DNA 链)。如果你把 4 种标记的双脱氧核糖核苷三磷酸和 4 种未标记的脱氧核糖核苷三磷酸一起放到一个测序反应中，产物将会是怎样的? 如果你把这些产物放在一条凝胶泳道电泳，结果看起来会是怎样的?

问题 10-15 基因组 DNA 克隆经常被用来在染色体上"行走"。这种方法中，一个克隆的 DNA 被用来分离和此 DNA 有重叠序列的其他克隆(图 Q10-15)。利用这种方法，可以组成一长段 DNA 序列从而在先前克隆的基因附近发现新的基因。

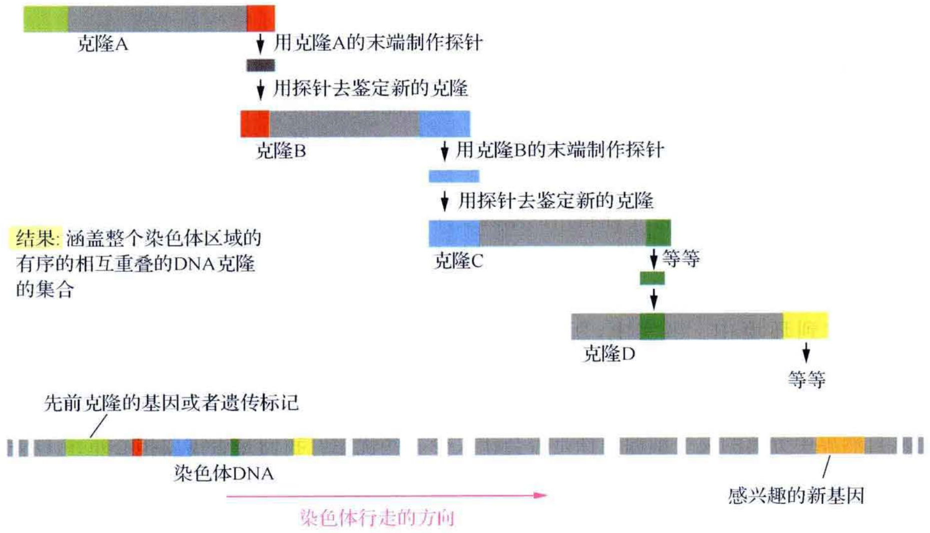


图 Q10-15

A. 由于 cDNA 克隆不含任何内含子序列，在该方法中应用 cDNA 克隆是否会快一些？

B. 如果你碰上了重复的 DNA 序列，例如，在基因组的不同地方有许多 L1 转座子的拷贝（图 6-35），结果将会怎样？

问题 10-16 你当地医院的产房发生了大混乱。4 组男性双胞胎，每对出生相差不到 1 h，在一场不太可能发生的兴奋事件中被无意中搞混了。你被叫去解决这个问题。作为第一步，你需要将每个婴儿与他的双胞胎兄弟匹配在一起。（许多新生儿长的非常像，所以你不能仅凭长相进行区分。）为完成这项任务，你用一个杂交探针分析了每个婴儿的血样，该探针可以识别广泛分布于基因组中的短散在重复（STR）。结果显示在图 Q10-16中。

图 Q10-16

A. 哪些婴儿是双胞胎？哪些是同卵双生的？

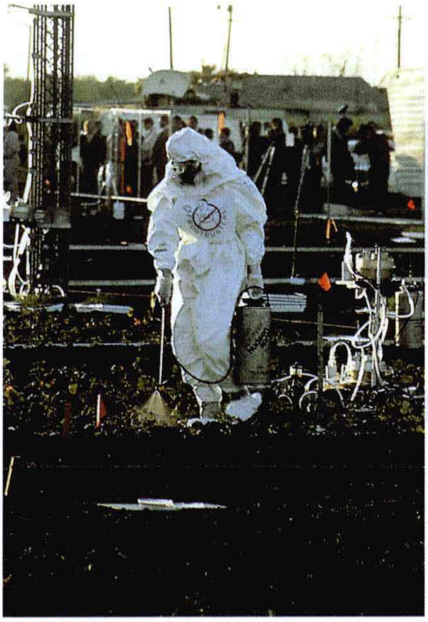
B. 你怎样将这些双胞胎与他们的父母匹配？

问题 10-17 利用 DNA 技术进行遗传改造的最早的生物之一是通常在草莓植物表面生活的一种细菌。该细菌合成一种冰蛋白，当气温刚好降到冰点以下时，冰蛋白能在自身周围有效地形成冰结晶。因此，感染这种细菌的草莓对霜冻特别敏感，因为它们的细胞被冰晶破坏。于是，草莓农场主对预防冰晶形成产生了浓厚的兴趣。

该细菌的一种利用遗传工程敲除了冰蛋白的基因变体形式被构建而成。突变体细菌被大量引入草莓种植区，通过竞争生态位，取代了正常的细菌。此法获得了成功：带有突变体细菌的草莓对霜冻的敏感性降低了。

然而，第一次进行开放式现场实验时却引发了激烈的争论，因为这是首次将在遗传上经过重组 DNA 技术改造的生物体释放到环境中。事实上，所有的前期实验都是在极度小心和严格控制条件下进行的（图 Q10-17）。

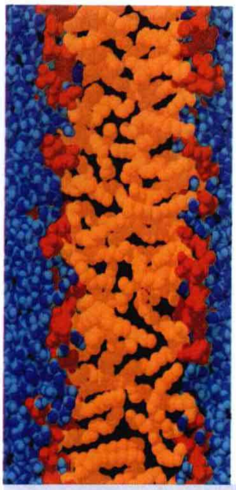
你认为如果没有现代 DNA 技术的应用，缺失冰蛋白的细菌能分离出来吗？这种突变是否可能存在于自然界中？利用从自然界中分离的突变细菌菌株是否会让人少一些忧虑？我们是否需要担心重组 DNA 技术在农业、医学应用中的危险呢？请解释。



(本图承蒙John Bedbrook and DNA Plant Technology公司惠许)

图 Q10-17

（石　岩　译）



11 膜的结构

11.1 脂双层
11.2 膜蛋白

活细胞就是一个装在容器内的分子自我复制系统，而该容器就是**质膜**——一层在光学显微镜下无法直接看到的薄而透明的脂肪膜。地球上的每个细胞都利用质膜将胞内的化学物质与外界环境隔离，保护胞内的生命变化进程。换言之，没有质膜就没有细胞，因此也就没有生命。

质膜的形式很简单：其结构是建立在约 5 nm——或 50 个原子——厚度的脂质双分子层上的。然而，它的性质不像我们每天生活中熟悉的任何一种材料。虽然质膜作为屏障可阻止细胞成分外漏并防止其与周围介质混合（图 11-1A），但其功能远不止于此。如果细胞要生存和生长，必须通过质膜运入营养物质和输出废物。为了便于这种物质交换，质膜上贯穿了许多高度选择性的通道和泵——允许某些特异性物质运入，同时排出另一些特异性物质的蛋白质分子。质膜中还有一些其他蛋白质分子作为传感器，能使细胞感知周围环境的变化并对其产生应答反应（图 11-2）。质膜的机械性质同样值得注意。当细胞生长或改变形状时，质膜也发生相应的变化：它在保持其连续性基础上通过增加新膜扩大其面积，还能变形而不破裂。倘若质膜被刺破，它既不像气球那样崩溃也不保持破裂状态，相反，它会迅速地重新封闭起来。

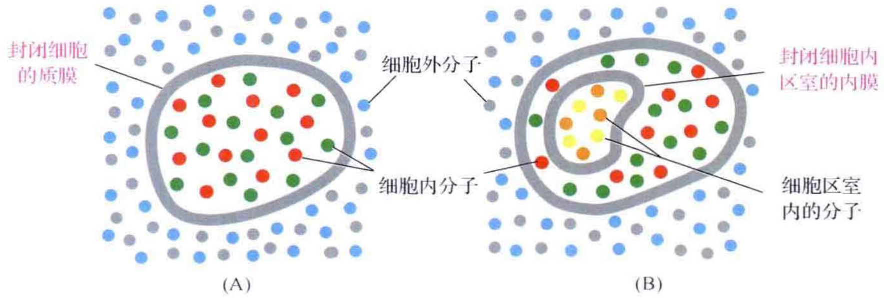


图 11-1 作为选择性屏障的细胞膜。（A）质膜把细胞与外界分开，在大多数细菌细胞中它是仅有的一层膜。它使细胞内的组成分子与细胞外界环境中不同。（B）在真核细胞中，另外的内膜包围着不同的细胞器。在这两种情况中，膜都阻止一侧的分子与另一侧的分子混合。

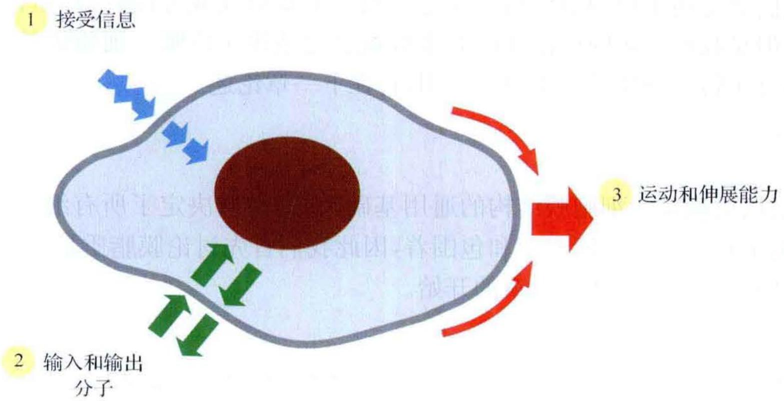


图 11-2 **质膜参与细胞通讯、分子进出、细胞生长和运动。**①质膜上的受体蛋白使细胞能接受外界环境的信号；②质膜中转运蛋白能使小分子进出细胞；③质膜的柔韧性和扩展能力使细胞生长和运动。

最简单的细菌只有一层膜——质膜。然而，真核细胞还含有大量包围胞内区室的内膜，内膜构成了包括内质网、高尔基体、线粒体在内的多种细胞器（图 11-3）。构建这些内膜的原理与构建质膜的原理相同。因此，在包含不同分子集合的区室之间，这些内膜也被用作选择性屏障（图 11-1B）。这些内膜在组成成分上的微细差别，特别是膜上蛋白的差异，赋予了每个细胞器独特的特性。

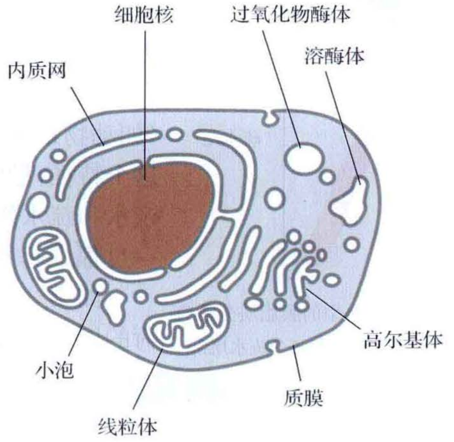


图 11-3 **在真核细胞中膜形成许多不同的区室。**这里显示了典型动物细胞内的膜包被细胞器。注意细胞核和线粒体都是由双层膜包围的。

尽管各种膜所在的位置不同，但所有的细胞膜都由脂质和蛋白质组成，并具有共同的基本结构（图 11-4）。脂质分子排列成两层紧密相对的薄层，形成脂双层（图 11-4B 和 C）。脂双层为细胞膜提供基本的结构并作为大多数水溶性分子的通透屏障。蛋白质分子则介导了膜的许多其他功能，并赋予不同的膜以独特的特性。

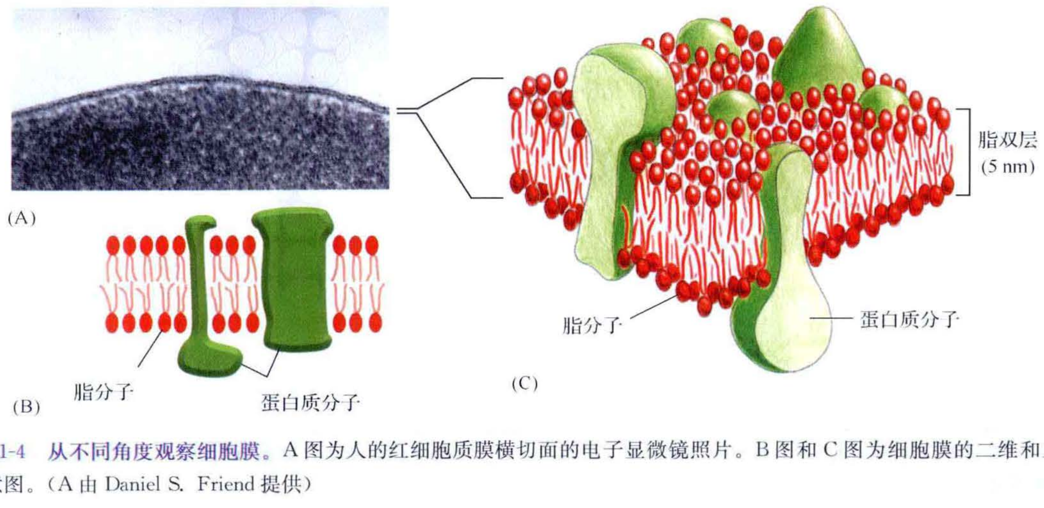


图 11-4 **从不同角度观察细胞膜。**A 图为人的红细胞质膜横切面的电子显微镜照片。B 图和 C 图为细胞膜的二维和三维示意图。（A 由 Daniel S. Friend 提供）

在本章，我们会论述生物膜的结构以及它的两个主要组成成分：脂质和蛋白质。我们主要集中论述质膜，但是我们在质膜中论述的大多数概念也适用于内膜。细胞膜的功能，包括它们在细胞通讯、小分子转运和能量产生中的作用，将在下一章论述。

11.1 脂双层

脂双层无疑已被确定为细胞膜结构的通用基础，它的性质决定了所有细胞膜的一般性质。因为细胞都是被水相的分子溶液充实和包围着，因此我们首先讨论膜脂质是如何在水相的环境中形成细胞膜结构的，并以此作为本章的开始。

11.1.1 膜脂质在水中形成双层

就单个分子而言细胞膜中的脂质兼有两种完全不同的性质：它们有一个亲水头部和一条或两条疏水烃尾(图 11-5)。细胞膜中最丰富的脂质是**磷脂**，其中亲水头部基团通过磷酸基团与该脂质的其余部分相连接。在大多数细胞膜中最普通的磷脂种类是**磷脂酰胆碱**(卵磷脂)，它有一个小分子胆碱附着于磷酸上作为它的亲水头部，两条较长的烃链作为它的疏水尾部(图 11-6)。

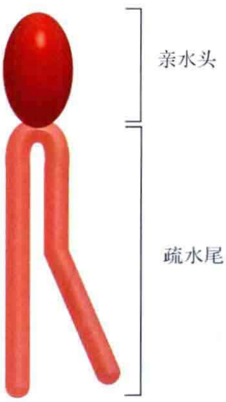


图 11-5　典型的膜脂质分子有一个亲水头部和两个疏水尾部。

同时具有亲水和疏水两种性质的分子称为**两亲性**。包括固醇类(如动物细胞膜中的胆固醇)在内的其他类型的膜脂质和糖脂也具有这个特征，糖脂中的糖作为它亲水头部的一部分(图 11-7)。同时具有亲水和疏水两种性质在驱使脂质分子在水相环境中装配成双层膜这一过程中起着决定性的作用。

如第 2 章中所讨论的，亲水分子容易溶于水是因为它们含有带电荷的原子或极性基团，即具有正、负电荷不均一分布的化学基团，这些

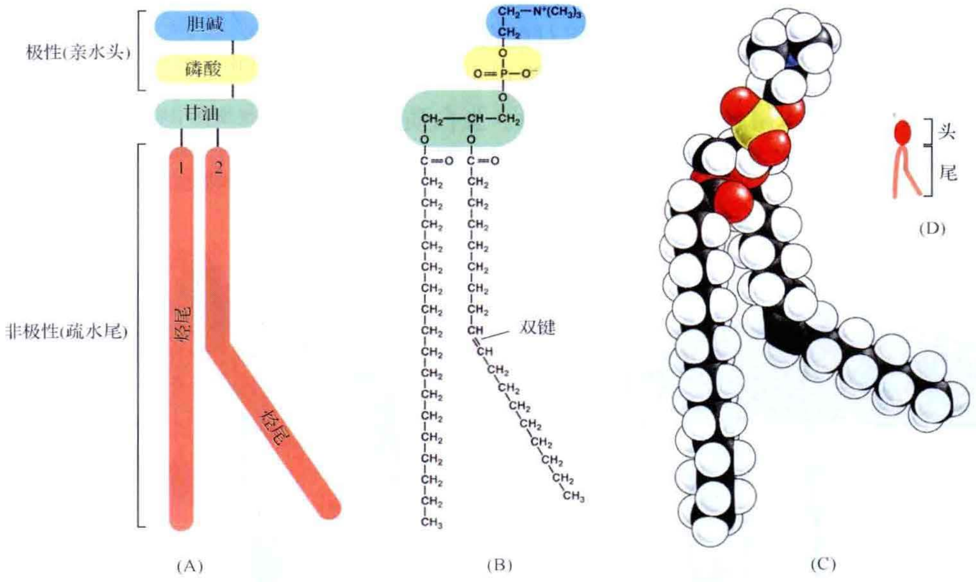


图 11-6　磷脂酰胆碱是细胞膜中最常见的磷脂。(A)示意图，(B)结构式，(C)空间填充模型，(D)符号。这个特殊的磷脂由 5 个部分组成：亲水头部，胆碱经磷酸与甘油相连，依次与两条烃尾链相连，形成疏水尾巴。两条烃尾以脂肪酸开头——也就是说，烃尾的一端为—COOH 基团并通过—COOH 基团附着在甘油上。其中一条烃尾发生一个扭结，在扭结处两个碳原子之间有一对氢键；为强调起见，在这些图中夸张了这一扭结。在磷脂类分子的名称中，“磷脂酰”指的是该分子的磷酸-甘油-脂肪酸部分。

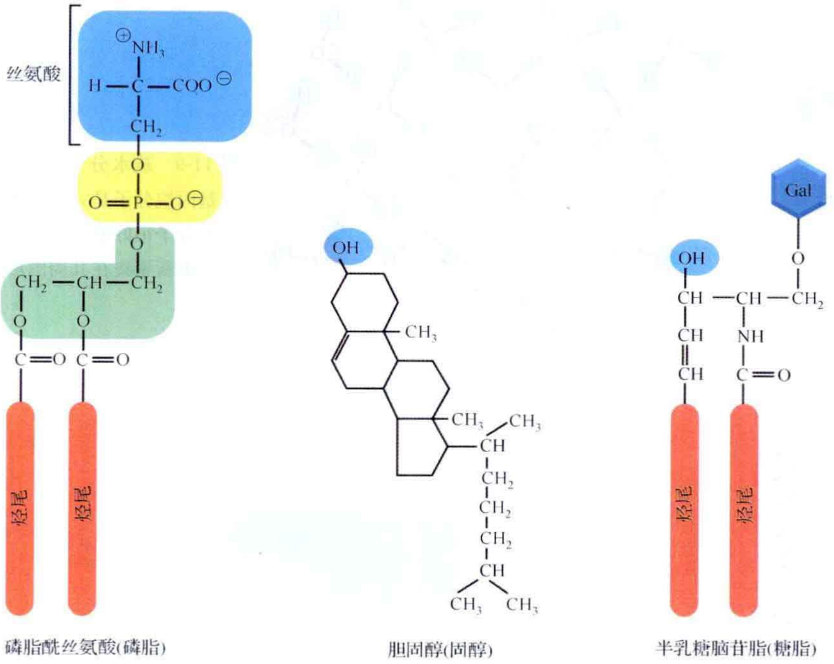


图 11-7　不同类型的膜脂质都是两亲的。这里展示的三种膜脂质每一种都有一个亲水头部和一个或两个疏水尾部。亲水头部(蓝色和黄色)是指磷脂酰丝氨酸中的丝氨酸-磷酸基,胆碱中的-OH 基和半乳糖脑苷脂中的糖(半乳糖)和—OH。参见图版 2-4。

带电荷的原子能够与水分子形成静电吸引或氢键,这本身就是极性(图 11-8)。相反,疏水分子不溶于水是因为它的所有或几乎所有的原子都不带电荷并且没有极性,因此它们不能与水分子形成良好的相互作用,而是迫使邻近的水分子围绕着疏水分子重新组排成笼状结构(图 11-9)。由于笼状结构比周围的水分子排列得更加有序,所以它的形成需要能量。然而,如果疏水分子聚集在一起,使与它们接触的水分子达到可能的最小数目,那么,能量的耗费被减少到最低水平。因此,纯的疏水分子,像动物脂肪细胞中的脂肪和植物种子中的油(图 11-10),当把它们分散在水中时,它们能聚合形成单个大油滴。

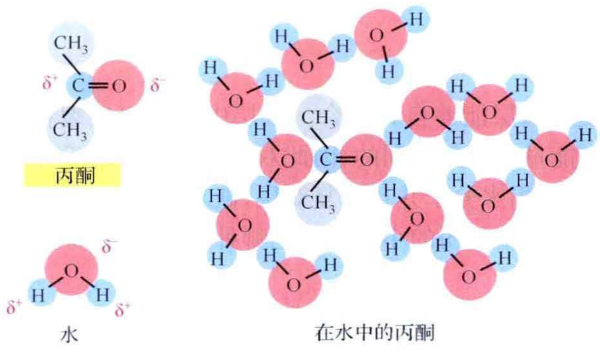


图 11-8　亲水分子吸引水分子。由于丙酮是极性的,它能与也是极性的水分子形成良好的相互作用,因此丙酮易溶于水。δ^- 表示带负电荷的部分,δ^+ 表示带正电荷的部分。红色和蓝色表示极性原子;灰色表示非极性原子。

相反,像磷脂这样的两亲分子(图 11-10B),则受制于两种对抗力量:亲水头部吸引水;而疏水尾部避开水分子,且企图与其他疏水分子聚集。脂双层的形成完美解决了这种对抗——满足所有组分的要求且在能量方面最有利的一种排列。在脂双层的两个表面亲水头部都面向水;而疏水尾部像三明治一样都在夹层内彼此紧挨着以避开水(图 11-11)。

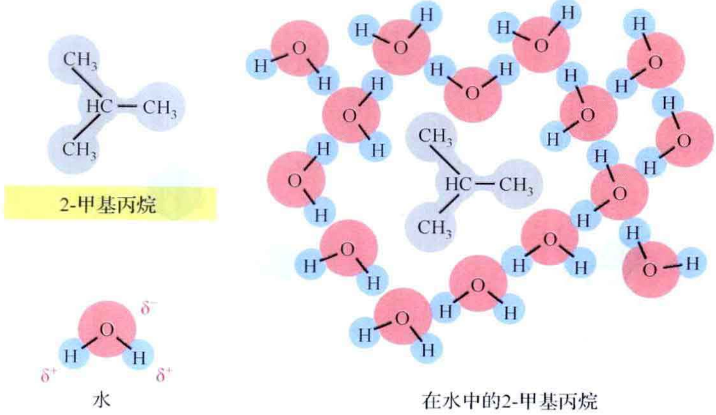


图 11-9 疏水分子倾向避开水。因为 2-甲基丙烷分子是完全疏水的，所以它不能与水分子很好地相互作用，它迫使邻近水分子重新聚集在其周围形成笼状结构。

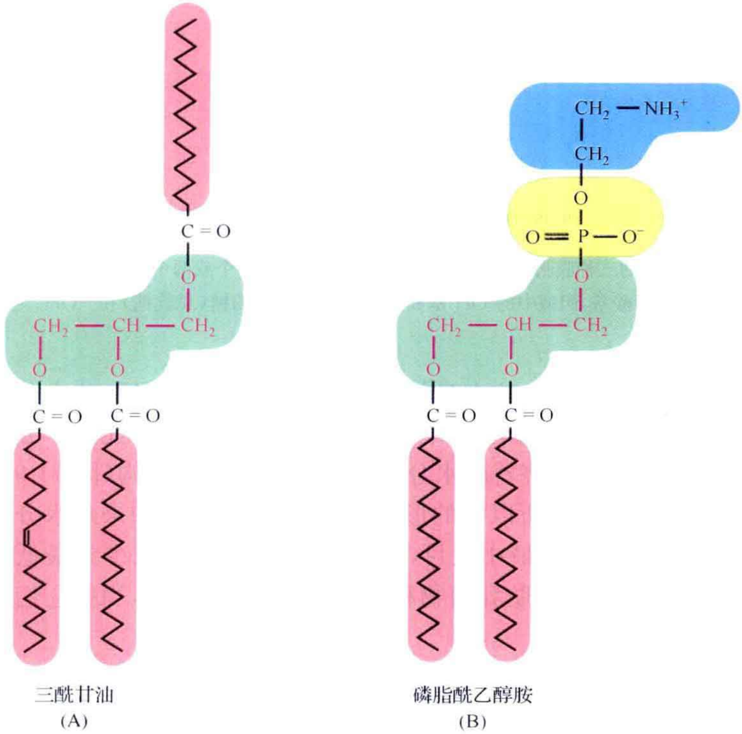


图 11-10 脂肪分子是疏水的，而磷脂是两亲的。(A)三酰甘油是动物脂肪和植物油的主要组成部分，它们是完全疏水的。(B)磷脂酰乙醇胺等磷脂是两亲的，同时具有疏水和亲水部分。疏水部分是红色底色，亲水部分是蓝色和黄色底色。(这里所画的三酰甘油的第三条疏水尾朝上是为了与磷脂做比较，通常是把它画成朝下的)

驱使两亲分子形成双层的同一个力量使脂双层能够自我愈合。双层中的任何破裂将产生游离边界使之暴露在水中。由于这种情况在能量方面是不利的，因此双层分子将自动重排以消除游离边界。如果裂缝很小，这种自动重排将排出水分子并且修复双层，恢复成一个连续的层；如果裂缝很大，这层膜会开始自我卷曲，分裂成几个封闭的小泡。无论哪种情况，总的原则就是快速消除游离边界。

防止游离边界的形成具有深刻意义，能使有限的膜层不产生游离边界的唯一途径就是弯曲并密封，使膜层成为包围某一封闭空间的边界(图 11-12)。因此，磷脂等两亲分子必定会自我装配形成限定一个封闭空间的自密封容器。而这种对活细胞的产生至关重要的非凡行为，实质上却只是每个分子具有一端亲水而另一端疏水这一性质的结果。

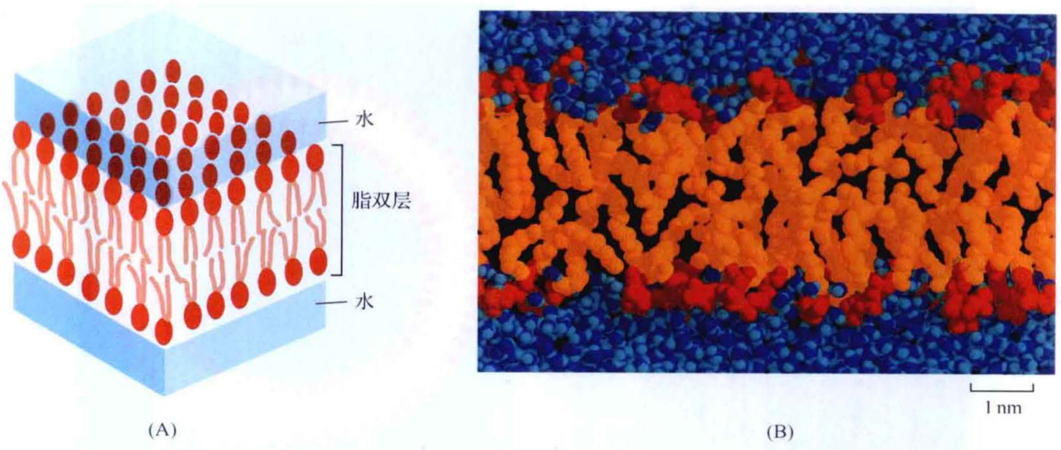


图 11-11　两亲磷脂在水中形成脂双层。(A)在水中的磷脂双层示意图。(B)计算机模拟显示脂双层横切面中的磷脂分子(红色头部和橘色尾巴)和其周围的水分子(蓝色)。(B引自 *Science* 262：223-228，1993，征得 AAAS 同意；由 R. Venable 和 R. Pastor 提供)

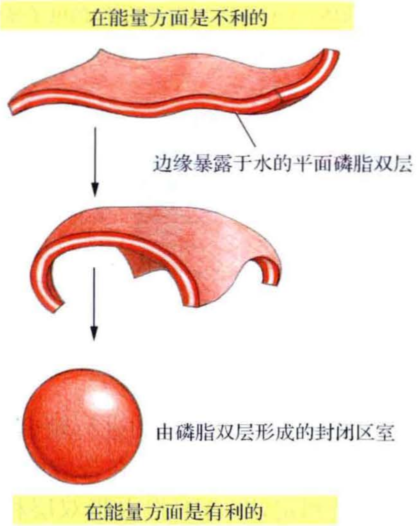
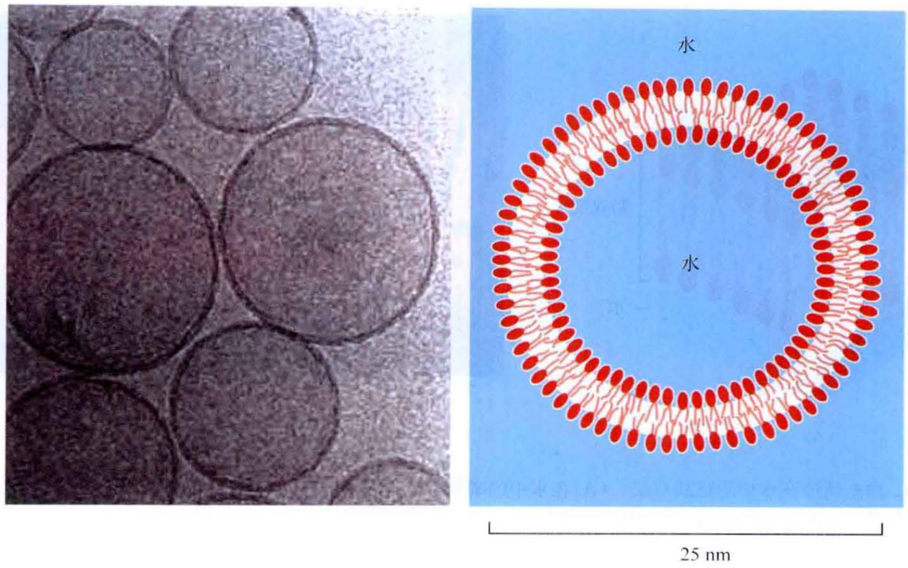


图 11-12　磷脂双层本身自发地封闭形成区室。这种封闭结构是稳定的，因为它避免了疏水烃尾暴露于水中。疏水烃尾暴露于水中在能量方面是不利的。

11.1.2　脂双层是一种二维流体

细胞内外都是水环境阻止了膜脂质从双层膜中逸出，但是任何物质也不能阻止这些分子在双层的平面内前后左右运动和彼此交换位置。因此，膜的行为像二维流体，这对于膜的完整和功能是至关重要的(视频 11.1)。这种特性不同于柔韧性，柔韧性使膜具有弯曲能力。膜的柔韧性也十分重要，它限定了膜所能形成的小囊泡的最小直径约为 25 nm。

利用两亲脂质分子在水中自发聚集这一特性，很容易制备人工合成的脂双层，用于研究脂双层的流动性。实验中常用两种类型的合成脂双层。一种是把纯磷脂加在水中，可形成封闭的球形小泡，叫脂质体，它们的直径大小为 25 nm～1 mm(图 11-13)。另一种是在两侧都是水溶液的隔板的小孔上形成平坦的磷脂双层(图 11-14)。



(A) (B)

图 11-13 纯的磷脂能形成封闭的球形脂质体。(A)磷脂小泡(脂质体)的电子显微镜照片显示膜的双层结构。(B)小的球形脂质体横切面图。(A 由 Jean Lepault 提供)

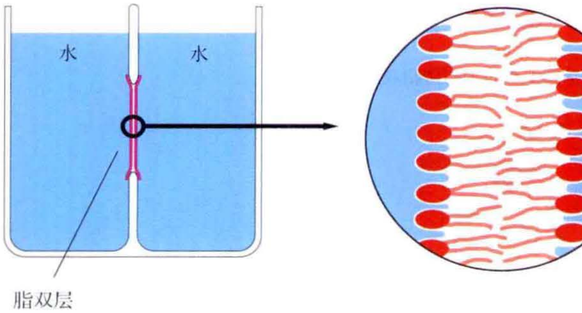


图 11-14 在分隔两个水溶液区室的隔板的小孔上(直径约 1 mm)能形成合成的磷脂双层。为了形成平面脂双层,隔板被浸没在水溶液中,并用画笔把磷脂溶液(在非水溶性溶剂中)涂满小孔。

这些简单的人工脂双层可用于对脂质分子的运动进行精密测定。结果发现一些类型的运动是偶尔发生的,而另一些运动则频繁而迅速。例如,在合成的脂双层中,磷脂分子很少从一单层(双层的一半)翻转到另一单层。经测定,在与细胞内脂双层相似的条件下,如果没有蛋白质促进这一过程,任何单个脂质分子发生所谓"翻转"运动的概率一个月不到一次。另外,由于热运动,单层内的脂质分子不断地与它的邻近分子交换位置(图 11-15),这种交换导致脂质分子在膜平面内迅速扩散。例如,人工脂双层中一个脂质分子在 1 s 内扩散的距离大约相当于一个大的细菌的长度(约 2 μm)。如果温度下降,脂质分子的运动速度随热能下降而降低,致使双层的流动性降低。

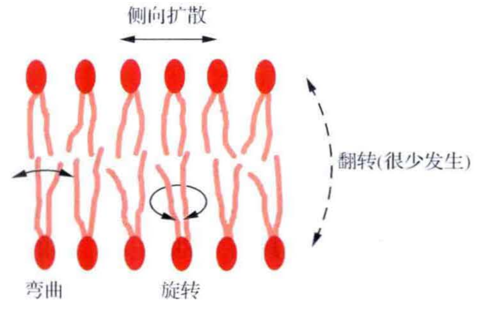


图 11-15 磷脂能在膜平面内运动。本图显示了脂双层内磷脂分子可能的运动类型。

用分离的细胞膜和完整细胞做实验得到相似的结果,表明细胞膜的脂双层也表现出二维流体性,它的脂质分子在它们自己所在的一层平面内可做不定

向的自由运动。这些研究也表明，脂肪烃链具有柔韧性，单层内的单个脂质分子能够绕其长轴非常迅速地旋转——有的甚至达到30 000 r/min转速(图 11-15)。在细胞内，如同在人工合成的脂双层中一样，单个磷脂分子通常被限制在它们自己所在的一层内，不能自发翻转。

11.1.3 脂双层的流动性取决于它的组成成分

细胞膜的流动性——脂质分子在双层平面内前后左右运动的难易程度——对于膜的功能是非常重要的，而且这一流动性必须维持在一定限度之内。在给定的温度下，脂双层如何流动取决于它的磷脂成分，特别是取决于烃尾的性质：尾部聚集得越紧密、越有规则，脂双层就越黏滞并较少流动。烃尾的两个主要性质影响了其在双层内的聚集：长度和含有双键的数目。

较短的链长减少了烃尾相互作用的倾向，因此增加了脂双层的流动性。膜磷脂分子的烃尾长度为 14～24 个碳原子，多数为 18～20 个碳原子。大多数磷脂的一条烃尾带有一个或多个双键，而另一条烃尾则只有单键(图 11-6)。原则上，含有双键的链不能在其碳主链上连接最大数目的氢原子，因此就氢原子而言它是**不饱和**的；而没有双键的链则带有充足的氢原子，因此被称为**饱和**的。不饱和尾部内的每一个双键在这烃尾内产生了一个小扭结(图 11-6)，使这些尾部相互之间更难聚集。因此，含有高比例不饱和烃尾的脂双层比含较低比例不饱和烃尾的脂双层表现出更大的流动性。

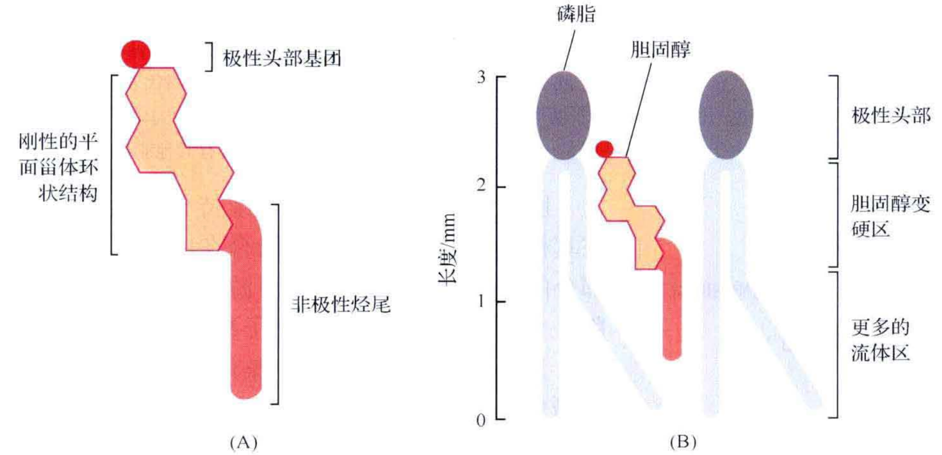


图 11-16 胆固醇倾向于使细胞膜变硬。(A)胆固醇的结构。(B)显示胆固醇任何镶嵌进入脂双层中磷脂分子之间的间隙。图 11-7 显示了胆固醇的结构式。

当细菌或酵母细胞处于不同的温度时，它们的脂双层膜中烃尾的长度和不饱和性都不断地被调整，以使膜流动性保持在相对恒定的水平：如在较高温度时，细胞调节膜脂质使之具有较长和含有较少双键的尾部。相似的技巧被用作从植物油中制造人造黄油。用植物生产的脂肪通常是不饱和的，因此室温下呈液体状，不像黄油或猪油那样的动物脂肪，它们通常是饱和的，室温下呈固体状。人造黄油是氢化植物油制成的；加氢去除植物油的双键，因此它们在室温下更易固化并更像黄油。

在动物细胞中，**胆固醇**的存在调节着膜的流动性(图 11-16A)。这种分子在质膜中含量特别高，它们约占质膜脂质的 20%。因为胆固醇分子短而具刚性，所以它们填充在相邻磷脂分子之间的空隙中，这些空隙是由磷脂分子不饱和烃尾中的纽结引起的(图 11-16B)。这样，胆固醇使脂双层变硬，使之更具刚性并减少通透性。膜脂质的化学特性——它们如何影响膜的流动性——概括在视频 11.2 中。

对于所有细胞而言，膜的流动性具有多重重要的意义。它使膜蛋白能在脂双层平面内迅速

扩散和相互作用，这在细胞信号传导中是非常关键的(在第16章中讨论)。它使那些合成后进入脂双层的膜脂质和蛋白质能从其插入的地方扩散到细胞的其他区域。它使膜互相融合并使膜上的分子相互融合。当一个细胞分裂时，膜的流动性保证了膜分子平均地分布于子细胞中。假如生物膜不是流动性的，难以想象细胞如何生存、生长和增殖。

11.1.4 脂双层是不对称的

细胞膜一般是不对称的：朝向细胞或细胞器内的表面显著不同于朝向外部的那个表面。脂双层的两个单层中通常含有显著不同的磷脂和糖脂成分(图11-17)。而且，蛋白质以特定的方向嵌入双层，这种定向对其功能起决定性作用。

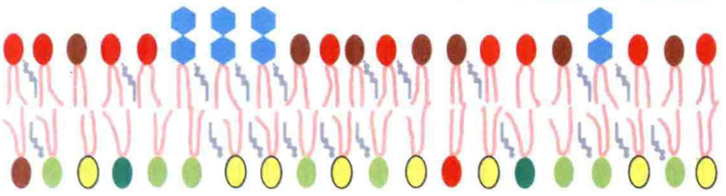


图11-17 磷脂和糖脂在质膜的脂双层中不对称分布。5种磷脂分子用不同的颜色表示：磷脂酰胆碱(红色)，鞘磷脂(棕色)，磷脂酰丝氨酸(亮绿)，磷脂酰肌醇(深绿)和磷脂酰乙醇胺(黄色)。糖脂上的蓝色六角形头部基团代表糖。所有的糖脂分子都位于膜的外侧单层，而胆固醇(灰色)几乎平均分布于两侧单层中。磷脂酰肌醇(未显示)是一种位于质膜胞质面单层的微量脂质，在那里它常被用于信号转导，由于它的头部基团是一个肌醇糖，所以它是一个例外，与所有其他脂质定位不同。

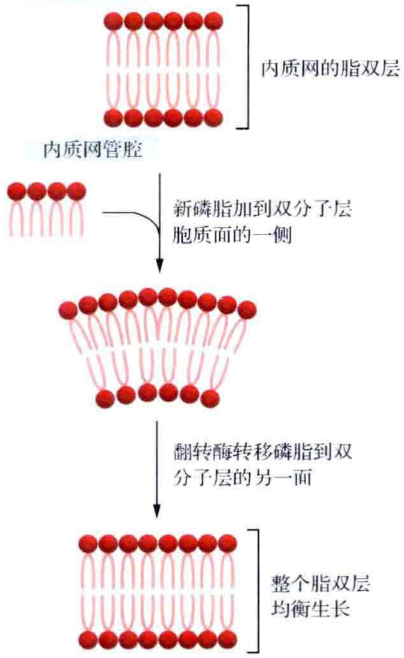


图11-18 翻转酶在脂双层合成中起作用。新合成的磷脂分子都被加到内质网的胞质面。然后翻转酶转移其中一些磷脂分子到对面的单层中，因此整个脂双层得以扩展。

脂质的不对称的建立和维持伴随着膜的生长过程。在真核细胞中，新的磷脂由结合在内质网膜朝向胞质面那部分的酶合成。这些酶利用游离的脂肪酸作为底物(图版2-4)，将新合成的磷脂分子统统安置在脂双层的胞质面。为了使膜能够作为一个整体匀称增长，一半新合成的磷脂分子必须翻转到对侧的单层中。这种翻转是被一种称作翻转酶的酶所催化的(图11-18)。在质膜上，翻转酶选择性地翻转特异的磷脂分子，因此在脂双层的两个单层中集中了不同类型的磷脂分子。

然而，选择性的翻转酶不是产生脂双层不对称性的唯一途径。特别是糖脂另有不同的机制——糖脂是许多动物细胞中都最具不对称性分布的一类脂质分子(图11-17)。为了解释它们的不对称分布，有必要更加仔细地观察真核细胞中新膜产生的途径。

11.1.5 在膜运输过程中脂质保留不对称性

真核细胞中，几乎所有新膜的合成都发生在一个细胞内的区室的膜上——内质网(ER，图11-3)。在那里装配好的新膜通过膜出芽与融合的循环被运往其他细胞膜：从内质网上脱落下来的小片膜形成被称为囊泡的小球，然后囊泡与质膜等其他的膜通过融合结合进另一膜(如质膜)内。

在囊泡形成和融合过程中，脂双层相对于胞质的取向是恒定的。这一恒定的取向意味着所有的细胞膜，无论是外面的质膜还是包被细胞器的内膜，在膜开始合成的时候就具有了明显的“内侧”和“外侧”表面：胞质面总是与细胞质邻接；而非胞质面总是暴露于细胞外部或细胞器内的空间(图 11-19)。

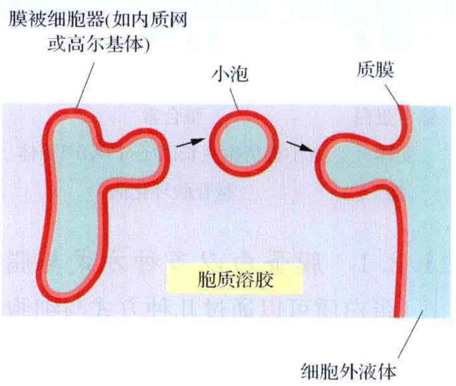


图 11-19　即使在细胞区室间转运后，膜仍然保持它们的方向性。膜通过小泡芽生和小泡融合的过程被转运。这里显示小泡从膜被细胞器芽生(如内质网或高尔基体)，并与质膜融合。注意在整个过程中，膜的方向始终被保持：起始的胞质面(红色)仍然对着胞质，非胞质面(橘色)继续背对胞质，朝向细胞器或小泡的腔或者朝向胞外液体。

糖脂主要分布于质膜中，而且发现它们只分布在脂双层的非胞质面。因此它们的糖基暴露在细胞的外面(图 11-17)。在大多数动物细胞的外表面，这些糖基形成糖类保护性外被的一部分。糖脂分子在高尔基体上获得它们的糖基，高尔基体是在内质网上合成的蛋白质和膜运送的第二站(在第 15 章中讨论)。由于添加糖基的酶被限制在高尔基体的腔面，因此糖只被加到脂双层的非胞质面单层的脂质分子上。一旦以这种方式产生糖脂分子后，它就一直被约束在此单层中，因为没有任何翻转酶能翻转糖脂分子到胞质面的单层中。因此，当糖脂分子最终被运送到质膜时，糖脂分子总是背对胞质并把糖基显露于细胞外(图 11-19)。

其他脂质分子显示了不同类型的不对称性分布，这关系到其他功能。例如，磷脂酰肌醇是质膜的少量成分，但是它们在把信号从细胞表面传输到对信号起应答反应的胞内成分过程中起了特殊的作用(在第 16 章中讨论)。磷脂酰肌醇只在信号已被传递通过质膜后才起作用，因此它们集中在脂双层的胞质一侧(图 11-17)。

11.2　膜蛋白

尽管脂双层为所有细胞膜提供了基本结构并作为其两侧分子的通透屏障，但是绝大多数的膜功能是由**膜蛋白**完成的。在动物细胞中，大多数质膜约 50%的物质是蛋白质，剩余的是脂质以及少量的与糖脂和糖蛋白结合的碳水化合物。然而，由于脂质分子比蛋白质分子要小得多，所以典型的细胞膜中脂质分子的数目约为蛋白质分子数目的 50 倍(图 11-4)。

膜蛋白不仅将特殊的营养物质、代谢产物和离子转运通过脂双层，而且还有许多其他功能。一些膜蛋白把膜锚连在两边的大分子上，另一些膜蛋白质作为受体感受细胞周围的化学信号并把它们递送到细胞内部，还有一些膜蛋白作为酶催化特殊的反应(图 11-20，表 11-1)。每种类型的细胞膜都含有不同类型的蛋白质，由此表现出特定膜的特殊功能。本章中我们将讨论膜蛋白的结构并阐述膜蛋白与脂双层结合的不同方式。

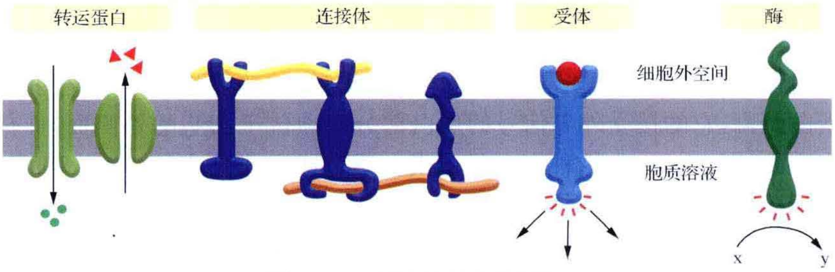


图 11-20　质膜蛋白有多种功能。

表 11-1　一些质膜蛋白的例子及其功能

功能分类	蛋白质例子	特殊功能
转运蛋白	Na^+泵	主动地把 Na^+ 泵出和 K^+ 泵入细胞(在第 12 章讨论)
锚定蛋白	整合素	连接细胞内肌动蛋白丝和细胞外基质蛋白质(第 20 章讨论)
受体	血小板衍生生长因子(PDGF)受体	结合细胞外 PDGF,由此产生引起细胞生长和分裂的细胞内信号
酶	腺苷酸环化酶	催化细胞内产生 cAMP 应答细胞外信号(在第 16 章讨论)

11.2.1　膜蛋白以多种方式与脂双层结合

蛋白质可以通过几种方式与细胞膜的脂双层结合(图 11-21)。

(1) 许多膜蛋白伸展穿越脂双层,膜的两侧各有该膜蛋白的一部分(图 11-21A)。像与它们相邻的脂质分子一样,这些*跨膜蛋白*既有疏水区域又有亲水区域。其疏水区位于脂双层的内部,与脂质分子的疏水尾部接触;其亲水区域暴露在膜两侧的水环境中。

(2) 另一些膜蛋白整个地位于脂双层的胞质面,通过暴露在蛋白表面的两亲 α 螺旋与脂双层的内叶相连(图 11-21B)。

(3) 一些膜蛋白整个地位于脂双层的外部,处于脂双层的内侧面或者外侧面,只靠一个或多个共价连接的脂质基团与脂双层连接(图 11-21C)。

(4) 还有一些膜蛋白通过与其他膜蛋白相互作用,间接地定位于膜的内侧或外侧(图 11-21D)。直接与脂双层连接的蛋白质——无论是跨膜蛋白,与脂双层单层连接或靠脂质连接的蛋白——只有通过去垢剂破坏脂双层后才能从膜上解离下来,对此后面将做讨论。这些蛋白质叫作*膜内在蛋白*。其余的膜蛋白称为*膜周边蛋白*;通过比较温和的抽提方法,干扰蛋白质-蛋白质相互作用但保留脂双层的完整性,就能从膜中释放出这些膜蛋白。

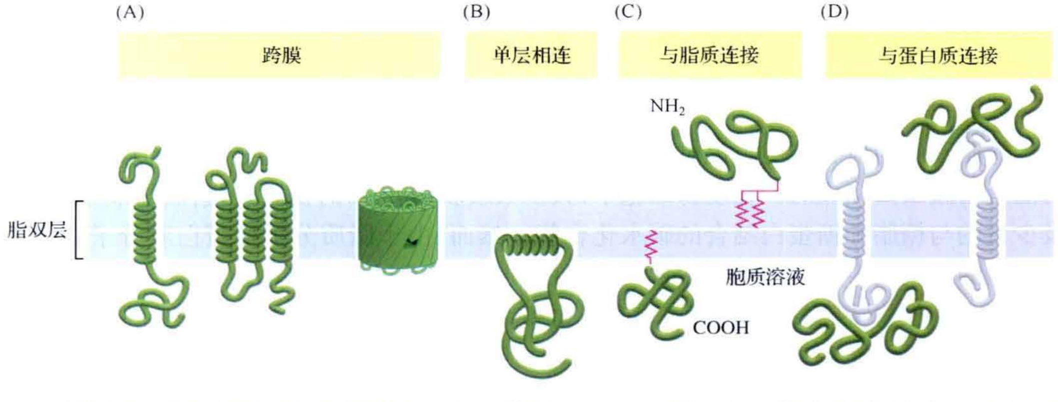


图 11-21　膜蛋白能以几种不同方式与脂双层结合。(A)跨膜蛋白能以单个 α 螺旋、多个 α 螺旋或卷起的 β 折叠(称为 β 桶)穿过脂双层。(B)一些膜蛋白以一个两亲的 α 螺旋锚定在膜的胞质面。(C)另一些膜蛋白仅以与脂质分子共价结合(红色曲折线)的形式与脂双层中的一面连接。(D)最终,许多蛋白质仅借助于与其他膜蛋白的较弱的非共价相互作用锚定在膜上。

11.2.2　多肽链通常以 α 螺旋穿过双层

所有膜蛋白在脂双层中均有独特的定向,这对于它们的功能是非常重要的。例如,对于一个跨膜受体蛋白而言,它的接受外界信号的蛋白部分必须位于细胞的外侧面,而传导信号的部分必须位于胞质面(图 11-20)。这种定向是由蛋白质合成方式决定的(在第 15 章中讨论)。跨膜蛋白伸展在脂双层外面的部分,靠该蛋白中特殊的跨膜片段连接起来(图 11-21A)。这些穿过脂双层内部疏水环境的跨膜片段,大多由带疏水侧链的氨基酸组成。因为这些侧链不能与水分子产生良好的相互作用,所以这些片段选择存在于不含水的脂质环境中。

然而，与疏水侧链相比，蛋白质中连接氨基酸的肽键通常是有极性的，从而使多肽主链呈亲水性（图 11-22）。由于脂双层中不含水，所以使形成主链的原子彼此间形成氢键。当多肽链形成一个有规律的 α 螺旋时氢键结合达到最大，因此多肽链的绝大多数跨膜片段以 α 螺旋的形式横穿脂双层（图 4-10）。在这些跨膜 α 螺旋中，疏水氨基酸侧链暴露在螺旋外侧面，与疏水脂质尾部接触，而多肽主链中的原子在螺旋内侧彼此形成氢键（图 11-23）。

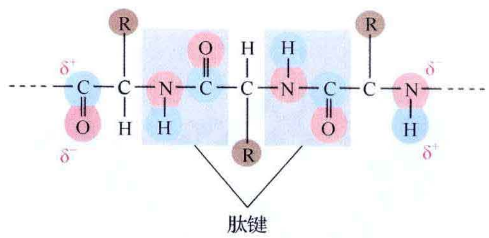


图 11-22 多肽链中把相邻氨基酸连接在一起的肽键（灰色底）是极性的，因此是亲水的。当多肽折叠成一个跨膜的 α 螺旋时，部分电荷（δ^- 表示带负电荷的部分，δ^+ 表示带正电荷的部分）让这些原子相互形成氢键（图 11-23）。

在许多跨膜蛋白中，多肽链仅跨膜一次（图 11-21A）。其中许多是胞外信号的受体。另一些跨膜蛋白形成允许水溶性分子穿越膜的亲水孔。那些均一性疏水且仅有单条跨膜 α 螺旋的蛋白质不能构成亲水孔，比较复杂的跨膜蛋白担任了这一任务，这些跨膜蛋白通常含有许多 α 螺旋且多次跨膜（图 11-21A），它们通过既含疏水性又含亲水性氨基酸侧链的 α 螺旋形成一个或多个跨膜区，这些氨基酸倾向于排列成疏水侧链位于螺旋的一侧而亲水侧链集中在另一侧的形式。在脂双层的疏水环境中，这种 α 螺旋一个挨一个排列成环状，使疏水侧链暴露在膜脂质外侧而亲水侧链形成横穿脂双层的亲水孔内衬（图 11-24）。在第 12 章中将讨论这些亲水孔在选择性转运水溶性分子穿越膜过程中是如何起作用的。

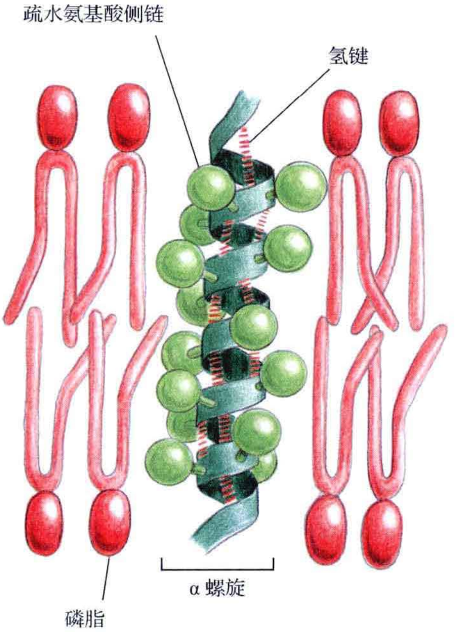


图 11-23 横跨脂双层的一段 α 螺旋。形成 α 螺旋的氨基酸的疏水侧链与磷脂分子的疏水烃尾接触，而多肽主链的亲水部分在螺旋内部相互形成氢键。完全横跨膜需要由 20 个氨基酸构成的 α 螺旋。

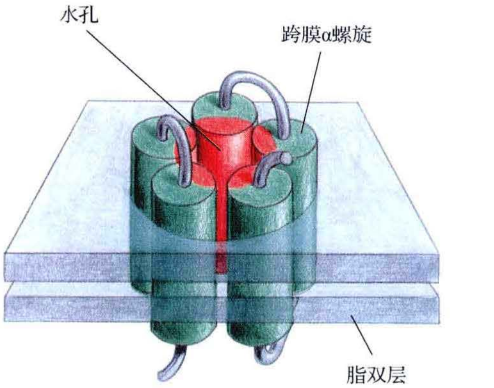


图 11-24 多个 α 螺旋构成跨膜亲水孔。在这个例子中，五个跨膜 α 螺旋形成横穿脂双层的充满水的通道。位于每个螺旋一侧的疏水氨基酸侧链（绿色）与疏水烃尾接触，而螺旋另一侧的亲水侧链（红色）形成充满水的孔。

虽然 α 螺旋是目前已知的多肽链穿越脂双层的最常见的方式，但是有一些跨膜蛋白的多肽链以 β 折叠方式弯曲成一个开放式圆桶的形式穿越脂双层，这个圆桶称为 β 桶。可以想象，朝向桶里面的、并因而衬在水通道里面的氨基酸侧链，大多是亲水的；而在桶外表面上的，与脂双

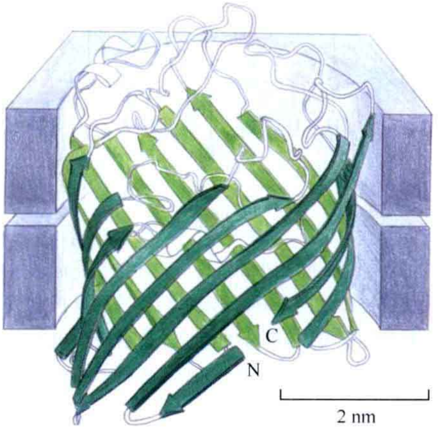


图 11-25 孔蛋白在荚膜红细菌(*Rhodobacter capsulatus*)外膜上形成充满水的通道。正如图中由 X 射线晶体图像所得的三维结构图所示,该蛋白质由一个 16 股的 β 折叠构成,这个 β 折叠自身弯曲形成一个充满水的跨膜通道,尽管在此图中没有显示,但实际上,三个孔蛋白结合形成一个三聚体,该三聚体具有三个分隔的通道。(引自 S. W. Cowan, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 3:501-507, 1993。征得 Elsevier 同意)

层疏水中心接触的氨基酸侧链,全是疏水的。β 桶结构最著名的例子就是孔蛋白,它在线粒体膜和细菌膜上形成了充满水的大孔道(图 11-25)。线粒体及一些细菌有双层膜,孔蛋白允许营养物和小离子通过线粒体和某些细菌的外膜,同时阻止抗生素和毒性分子等大分子进入。与 α 螺旋不同,由于 β 折叠被弯曲形成圆桶的紧致程度是受限制的,因此 β 桶只能形成大通道。就此而言,β 桶的广泛性要比 α 螺旋小一些。

11.2.3 膜蛋白能被去垢剂溶解并纯化

为了全面认识一个蛋白质,需要知道它的详细结构,而对于膜蛋白,却存在特殊问题。许多生化步骤的设计都适用于可溶解于水或简单溶剂中的分子,而膜蛋白是存在于部分水和部分脂肪的环境中的,因此从这个环境中抽提出膜蛋白并纯化它们,同时保存其基本结构,并不是一件容易的事情。

在详细研究一个蛋白质之前,必须把它与所有其他蛋白质分离。对于大多数膜蛋白而言,分离过程的第一步就是用一些试剂溶解膜,这些试剂通过瓦解疏水结合作用而摧毁脂双层。最广泛使用的破坏剂就是**去垢剂**(视频 11.3)。它们是两亲的脂质样小分子,既有一个亲水区又有一个疏水区(图 11-26)。不同于膜磷脂的是去垢剂只有一条疏水尾部,因而其作用方式明显不同。由于去垢剂分子只有单个疏水尾部,它们更像圆锥形状;在水中它们趋向聚成一小簇,称为微团,而不像圆柱状的磷脂那样形成双层。

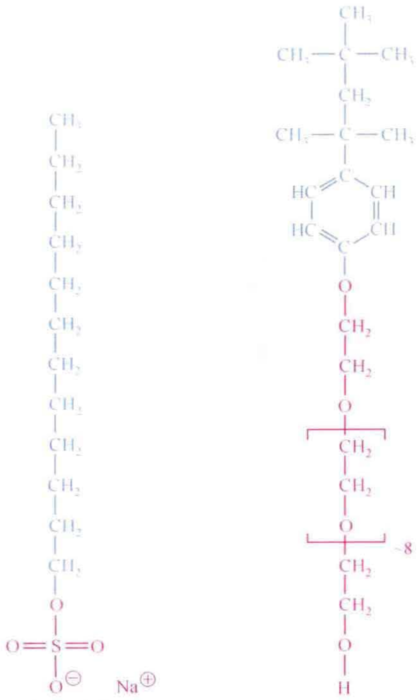


图 11-26 SDS(十二烷基硫酸钠)和 Triton X-100 是两种常用的去垢剂。SDS 是一种强的离子型去垢剂(也就是在其亲水端有一个离子基团),Triton X-100 是一种温和的非离子型去垢剂(也就是在其亲水端有一个非离子但呈极性的结构)。每个去垢剂的疏水部分用蓝色表示,亲水部分用红色表示。Triton X-100 的括号部分重复八次左右。SDS 等强离子型去垢剂不仅能从蛋白质中置换出脂质分子,还能展开这些蛋白质(图版 4-5)。

当过量的去垢剂与膜混合时，去垢剂分子的疏水尾端与跨膜蛋白的跨膜疏水区结合，同时也与磷脂分子的疏水尾部结合，因而破坏脂双层并将蛋白质从磷脂中分出。因为去垢剂的另一端是亲水的，所以这种结合导致膜蛋白以蛋白质与去垢剂形成复合物的形式被带进溶液中（图 11-27）。同时，去垢剂也溶解磷脂。利用聚丙烯酰胺凝胶电泳的技术，可以将这些蛋白质-去垢剂复合物与脂质-去垢剂复合物分离，并将它们彼此分开（在第 4 章中讨论过）。

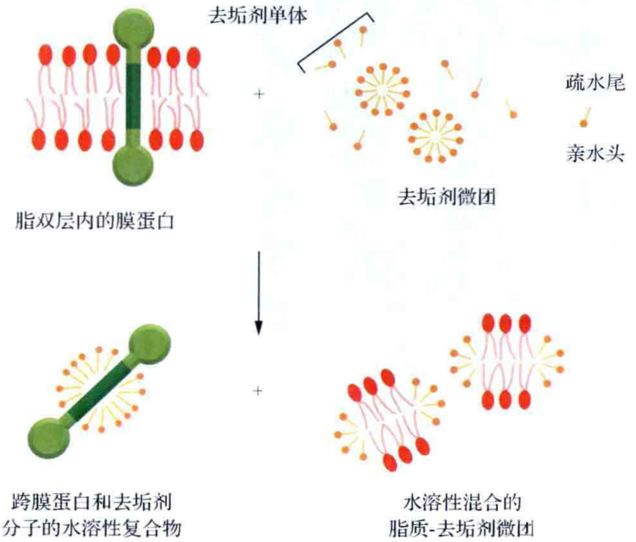


图 11-27　利用 Triton X-100 等温和的去垢剂溶解膜蛋白。显示去垢剂分子（金色）的单体和微团，后者是去垢剂分子在水中聚集成簇的形式。去垢剂的亲水头是这个微团的外缘。去垢剂裂解脂双层，以蛋白质-去垢剂复合物的形式将蛋白带入溶液中。膜中的磷脂也被去垢剂溶解。

11.2.4　只有少数几种膜蛋白的完整结构是清楚的

许多年来，很多我们所知的关于膜蛋白结构的知识都是来源于间接手段。直接测定蛋白质结构的标准方法是 X 射线衍射晶体分析法（图 4-48），但是这个方法需要蛋白质分子的有序的结晶排列，而膜蛋白已被证明比位于细胞质和细胞外液中的可溶性蛋白更难结晶。然而，随着近几年结晶学的发展，许多膜蛋白的 X 射线结构已被解析到很高的分辨率，包括细菌紫膜质和光合反应中心——在捕获和利用太阳能方面具有重要作用的细菌膜蛋白，在第 14 章我们将详细论述其功能。细菌紫膜质的结构第一次确切地揭示了 α 螺旋如何穿过脂双层，而光合反应中心的结构则详细揭示了一系列不同的蛋白质分子如何在膜内装配成有功能的复合物。

细菌紫膜质是从生活在盐沼地中的一种古细菌——盐生盐杆菌（*Halobacterium halobium*）的质膜中发现的大量表达的小分子蛋白质（约 250 个氨基酸）。细菌紫膜质作为膜转运蛋白，把 H^+（质子）泵出细菌。泵的过程需要能量，细菌紫膜质直接从太阳光中获得能量。每个细菌紫膜质分子含有一个吸收光的非蛋白质分子——称为视黄醛——它使该蛋白质（和细菌）呈现深紫色。这个小的疏水分子与细菌紫膜质的 7 次跨膜 α 螺旋中的一个 α 螺旋共价连接，它位于脂双层的平面上，并被 7 个 α 螺旋完全包围着（图 11-28）。视黄醛吸收光子时会改变其形状，同时引起嵌在脂双层内的蛋白质进行一系列小的构象变化。这些变化导致一个 H^+ 从视黄醛上转移到细菌外面：H^+ 沿着安置得很有策略的极性氨基酸侧链途径跨越双层（图 11-28）。然后，视黄醛再从胞质中摄取一个 H^+，从而再生，蛋白质恢复到原来的构象，以便它可以重复循环。最终结果是把一个 H^+ 从细胞内转移到细胞外。在阳光下，成千上万的细菌紫膜质分子把 H^+ 泵出细胞，产生细菌膜两侧 H^+ 浓度梯度。细胞利用这种质子梯度储存能量，并把它转化为 ATP，这个过程将在第 14 章详细讨论。细菌紫膜质是一种转运蛋白，一种将分子和离子运入和运出细胞的膜蛋白（图 11-20）。我们将在第 12 章讨论别的转运蛋白。

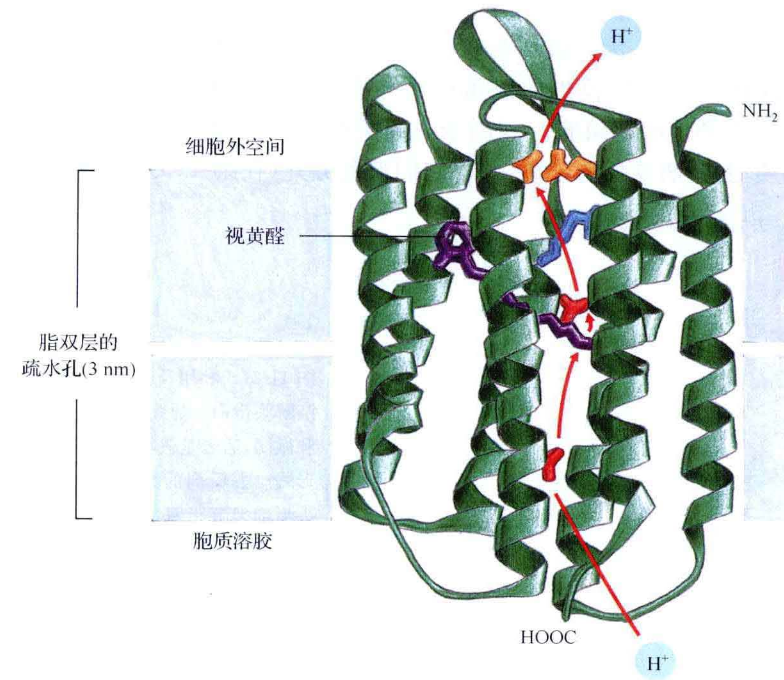


图 11-28　细菌紫膜质担任质子泵。多肽链以 7 个 α 螺旋横穿脂双层。这里显示了光激活泵循环过程中视黄醛的定位（紫色）和质子所取的可能途径；参与 H^+ 转移过程的极性氨基酸侧链用红色、黄色和蓝色表示。注意质子所取的途径使它们避免与脂双层接触。质子转移过程见视频 11.4。我们自己的眼睛也用视黄醛检测光，在我们的眼睛内视黄醛与一种结构很像细菌紫膜质的蛋白连接。（引自 H. Luecke 等，*Science* 286:255-260，1999。征得 AAAS 同意）

图 11-29 显示了细菌光合反应中心的结构。它是由 4 个蛋白亚单位组成的大型复合物。其中三个为跨膜蛋白；两个（M 和 L）有多个穿过脂双层的 α 螺旋，而另一个（H）只有一个。第四个蛋白质（细胞色素）与膜外表面连接，结合在跨膜蛋白上。整个蛋白质复合物就像一部分子机器，摄取由叶绿素分子吸收的光能，产生光合反应需要的高能电子（在第 14 章中讨论）。由许多膜蛋白排列形成大型复合物的光合反应中心结构揭示了多种构象设计原则，适用于成千上万的其他结构未知的膜蛋白。

11.2.5　细胞皮层加固质膜

细胞膜本身极薄易碎。要达到一张纸的厚度，几乎需要 1 万片细胞膜一片一片地叠在一起。因此，大多数细胞膜被一个蛋白质框架支撑着并得以强化，蛋白质框架通过跨膜蛋白与膜相连。特别是细胞的形状和质膜的机械性能，就是由称为*细胞皮层*的纤维蛋白网状结构决定的，这一细胞皮层与膜的胞质面相连。

人类红细胞的细胞皮层是比较简单和有规则的结构，是迄今了解得最清楚的结构。红细胞小且有独特的扁平形状（图 11-30）。其皮层的主要成分是*血影蛋白*，这是一种长约 100 nm 的细长且柔软的棒状结构。它形成支撑质膜和维持细胞形状的网状结构。血影蛋白网状结构通过胞内的附着蛋白与膜连接，这些附着蛋白把血影蛋白连接到特定的跨膜蛋白上（图 11-31）。在血影蛋白结构基因异常的小鼠和人中可以观察到这种网状结构的重要性。这些个体都患贫血症：他们的红细胞比正常人少；他们的红细胞呈球形而不是扁平形，并且异常脆弱。

大多数动物细胞的皮层内也存在着与血影蛋白以及与之连接的附着蛋白相似的蛋白质，但是这些细胞中的皮层比红细胞内的皮层复杂得多。红细胞需要其皮层主要是为它被泵过血管

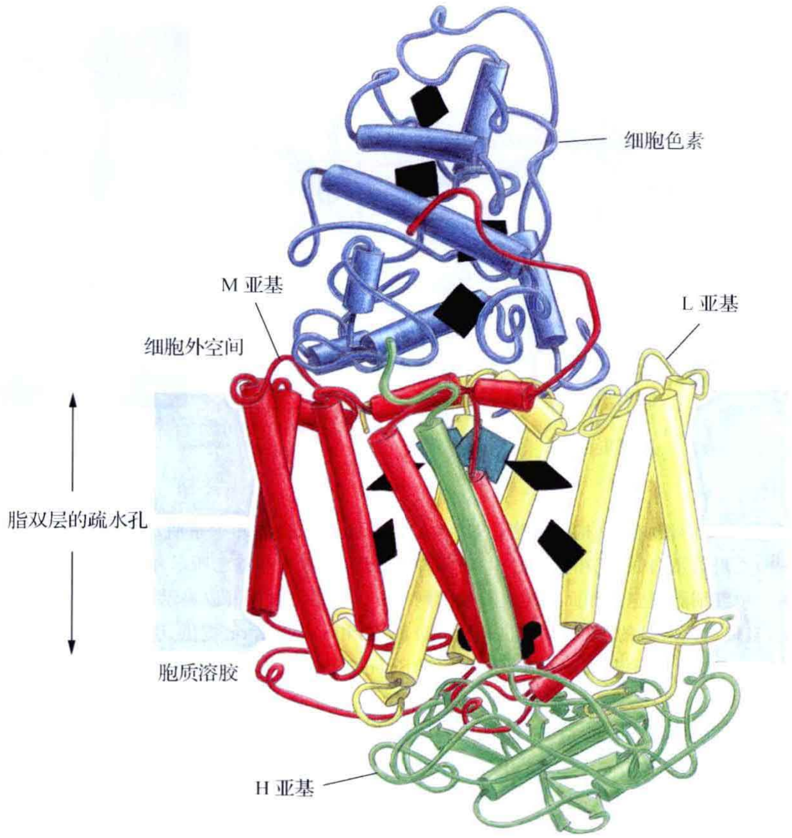


图 11-29　嗜硫红假单胞菌(*Rhodopseudomonas viridis*)光合反应中心从太阳光中获取能量。应用 X 射线衍射法分析这个跨膜蛋白复合物的结晶，测定其三维结构。这个复合物由四个亚基组成——L，M，H 和一个细胞色素。L 和 M 亚基形成反应中心的核心，每个亚基包含 5 条穿过脂双层的 α 螺旋。所有的 α 螺旋都显示圆柱形。除了被光激发的特殊的叶绿素分子对(在图中以深绿表示)外，共价连接在蛋白质亚基上的各种带电基团的所有位置以黑色表示。注意，细胞色素只与膜外表面的跨膜亚基相连接(图 11-21D)。(引自 J. Richardson 的图，其根据 J. Deisenhofer 等，*Nature* 318：618-624，1985。征得 Macmillan 同意)

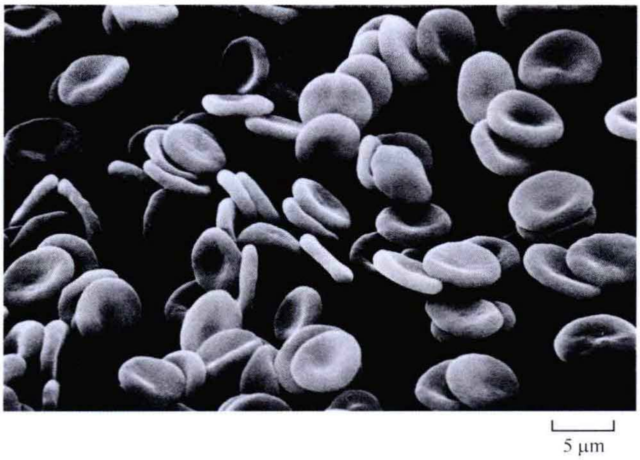


图 11-30　扫描电子显微镜照片显示人红细胞具有独特的扁平结构。这些细胞没有细胞核和其他细胞器。(由 Bernadette Chailley 提供)

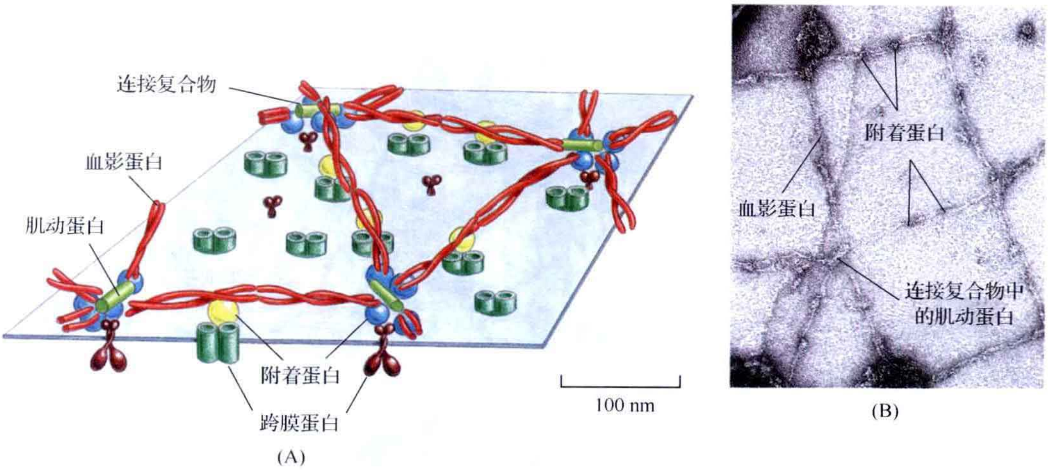


图 11-31 人红细胞中血影蛋白网络构成细胞骨架。(A)血影蛋白二聚体和少量肌动蛋白分子一起形成网状网络，该网络借助至少两类附着蛋白(黄色和蓝色所示)与两种跨膜蛋白(绿色和棕色所示)的结合而与质膜相连。(B)电子显微镜照片显示一个红细胞膜胞质侧面上的血影蛋白网络。该网络已被展开以显示其结构细节；正常细胞中图示的网络会更加密集，且仅占此区域的 1/10 左右。(B 由 T. Byers 和 D. Branton 提供，引自 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 82:6153—6157，1985。征得 National Academy of Sciences 同意)

时提供机械性强度，而其他细胞需要其皮层主要是使它们能主动地改变形状及运动，这将在第 17 章中讨论。而且，正如我们下一节将要讨论的，许多细胞需要用皮层限制膜蛋白的运动。

11.2.6 细胞能限制膜蛋白的运动

因为膜是二维流体，所以许多膜蛋白像脂质一样能在脂双层平面内自由地运动。这一点可以通过巧妙地应用小鼠细胞与人细胞融合形成双倍大小的杂交细胞，然后监测小鼠和人的质膜蛋白的分布来证实。起初小鼠和人的蛋白质分别局限在新形成的杂交细胞的各自的一半上，大约半小时后，这两套蛋白质在整个细胞表面上均匀混合(图 11-32)。

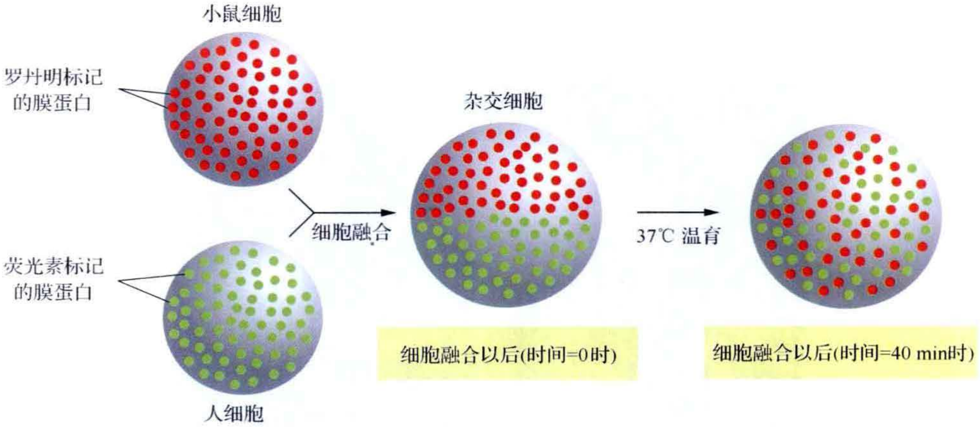


图 11-32 小鼠-人杂交细胞的形成证明质膜蛋白能在脂双层上侧向运动。小鼠和人的蛋白起初局限在新形成的杂交细胞质膜的各自的一半上，但在很短的时间内它们互相混合。为了显示这些蛋白，两种分别结合人和小鼠蛋白质的抗体各自标记上不同的荧光标志(罗丹明或荧光素)，并加于细胞。在荧光显微镜下能区别这两种荧光抗体，因为荧光素呈绿色，而罗丹明呈红色。(根据 L. D. Frye 和 M. Edidin, *J. Cell Sci.* 7:319—335，1970 的观察。征得 The Company of Biologists Ltd. 同意)

然而，把膜的情形理解为所有蛋白质在脂质海洋内自由地漂动未免太过简单。细胞有办法把特定的质膜蛋白限定在脂双层的局部区域，从而在细胞或细胞器的表面产生特化的功能区，或叫**膜域**。我们在“我们如何得知”中叙述了几种研究膜蛋白运动的方法。

如图 11-33 所示，质膜蛋白能被连接到胞外的固定结构上——如连接到胞外基质内的分子上（在第 20 章中讨论）——或者锚定在细胞内相对不动的结构上，尤其是细胞皮层上（图 11-31）。最后，细胞能产生屏障将特定的膜成分限制在一个膜域。例如，在肠内壁上皮细胞中，将从肠腔摄取营养物所涉及的转运蛋白限定在细胞顶端表面（面向肠腔的表面），而将那些把溶质从上皮细胞转运到组织和血流转运过程中所涉及的其他转运蛋白限制在细胞的基底和侧面，是一件很重要的事情（图 11-34）。这种膜蛋白的不对称性是由相邻上皮细胞通过所谓紧密连接的结构封合起来形成的带状屏障所维持的。在这个部位，特殊的连接蛋白围绕着细胞形成连续带，那是一个细胞与相邻细胞接触的部位，在相邻细胞膜之间形成一密封带（图 20-23）。膜蛋白不能扩散通过这个连接。

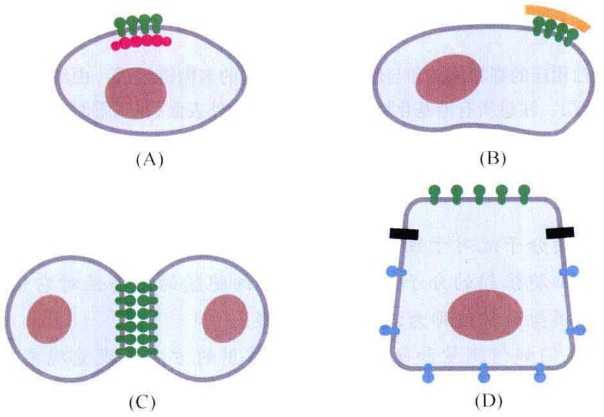


图 11-33　质膜蛋白的侧向运动能被几种方式限制。蛋白能被系在胞内的细胞皮层上（A），或被系在胞外的胞外基质分子上（B），或被系在另一个细胞表面的蛋白质上（C）。扩散屏障（黑色杆表示）也能把蛋白质限制在特定的膜区（D）。

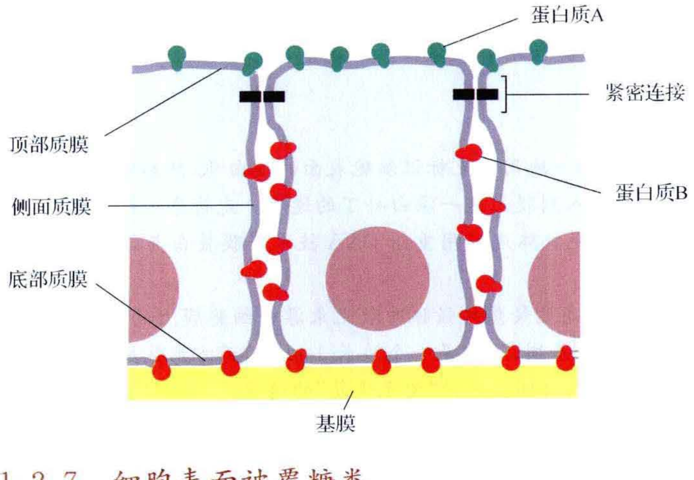


图 11-34　膜蛋白被限制在肠上皮细胞质膜的特定区域。蛋白 A（在顶端膜上）和蛋白 B（在底部和侧面膜上）能在它们自己的膜区进行侧向扩散，但被紧密连接的特殊细胞连接阻止它们进入其他区域。

11.2.7　细胞表面被覆糖类

人们早就发现，细胞质膜外层上的许多脂质都具有与它们共价连接的糖。质膜上的许多蛋白质也是如此。绝大多数这种蛋白质具有与其相连接的短链糖，称为寡糖；这些蛋白质称为糖蛋白。另外一些膜蛋白具有一个或多个与之连接的长的多糖链，称为蛋白聚糖。糖蛋白、蛋白聚糖和糖脂上的所有糖类都位于膜的非胞质面一侧，它们在此侧面上形成称为**糖基化层**的糖衣（图 11-35）。

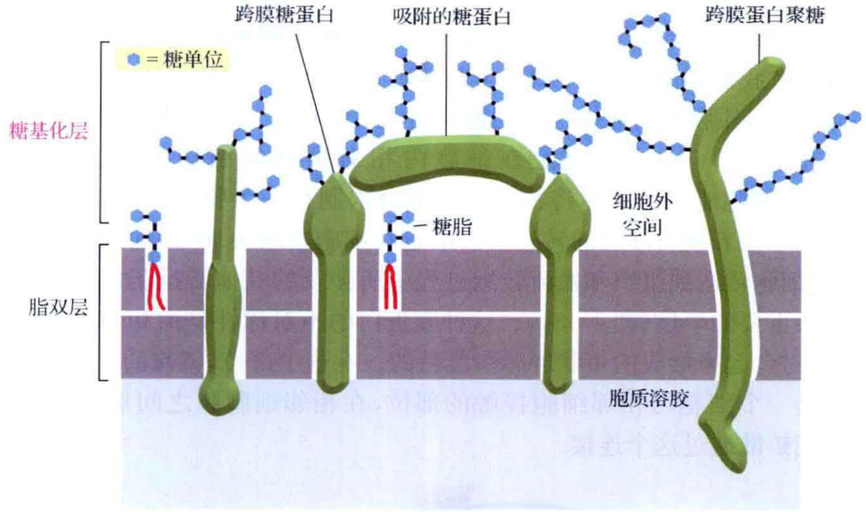


图 11-35 真核细胞被覆糖类。糖基化层由与膜糖脂和糖蛋白相连的寡糖侧链和与膜蛋白聚糖相连的多糖链组成。由细胞分泌、后又被吸附回到其表面的糖蛋白和蛋白聚糖也构成糖基化层。注意所有糖基化层都是位于质膜的外表面(非胞质面)。

我们如何得知：测量膜流

膜的流动性是脂双层的一个重要特征。这种重要的分子流对于细胞膜的完整性和功能都非常关键。它允许驻留的蛋白质在双层中漂流，连接和解连接，参与细胞依赖的分子间相互作用。细胞膜的动态性对它们正确的功能是如此重要以至于我们关于膜结构的工作模型通常被称为流动-镶嵌模型。

既然细胞膜流动性对于膜结构和功能非常重要，我们如何测量和研究它呢？最常用的方法是视觉观察：直接标记膜上的一些天然分子，然后观察它们的运动。通过将带有标签的抗体标记到膜蛋白上，这种方法首次展示了膜蛋白的扩散运动(图 11-32)。然而，这个实验带给研究者的印象是膜蛋白在脂质的开放海洋中没有限制地自由漂移。我们现在知道这种想法是不完全正确的。为了更全面地考查膜的动态性，研究者已经发明了很多更精确的方法用于追踪活细胞质膜等膜中的蛋白质运动。

荧光漂白恢复法攻击

其中一种技术称为荧光漂白恢复(FRAP)，即均一地用荧光标记细胞表面的蛋白质，然后将这荧光海洋中的一小块区域漂白，再观察周围已标记蛋白质渗入到膜上这一漂白补丁的速率。先将感兴趣的膜蛋白标记上特定的荧光基团。这种标记可以通过利用荧光抗体或利用重组 DNA 技术将膜蛋白与绿色荧光蛋白(GFP)等荧光蛋白融合(第 10 章讨论)得以实现。

一旦完成细胞标记，就可以在显微镜下用一个高度聚焦的强脉冲激光束漂白细胞膜上的一小块区域。这种处理不可逆地漂白了细胞表面一个小点的荧光基团，通常是一个边长 1 μm 的正方形区域(图 11-36)。然后，测量荧光蛋白从邻近区域迁移到该漂白区域的时间。这种“荧光恢复”的速率是对周围蛋白分子在膜中扩散速率的直接测量(视频 11.5)。这些实验表明，一般来说，细胞膜像橄榄油一样黏稠。

一个一个地追踪

FRAP 方法的一个缺点是该技术测量的是相当大的蛋白质群体——几百或几千——在膜上相当大区域内的运动。利用这种技术不能测量单个分子的运动。例如，如果一个蛋白在 FRAP 研究过程中不能迁移到漂白区域，是不是因为这个分子不能运动，本质上锚定在膜的一面上呢？或者它被细胞骨架蛋白束缚，限制在一个很小的区域内运动，因此表现出不能运动呢？

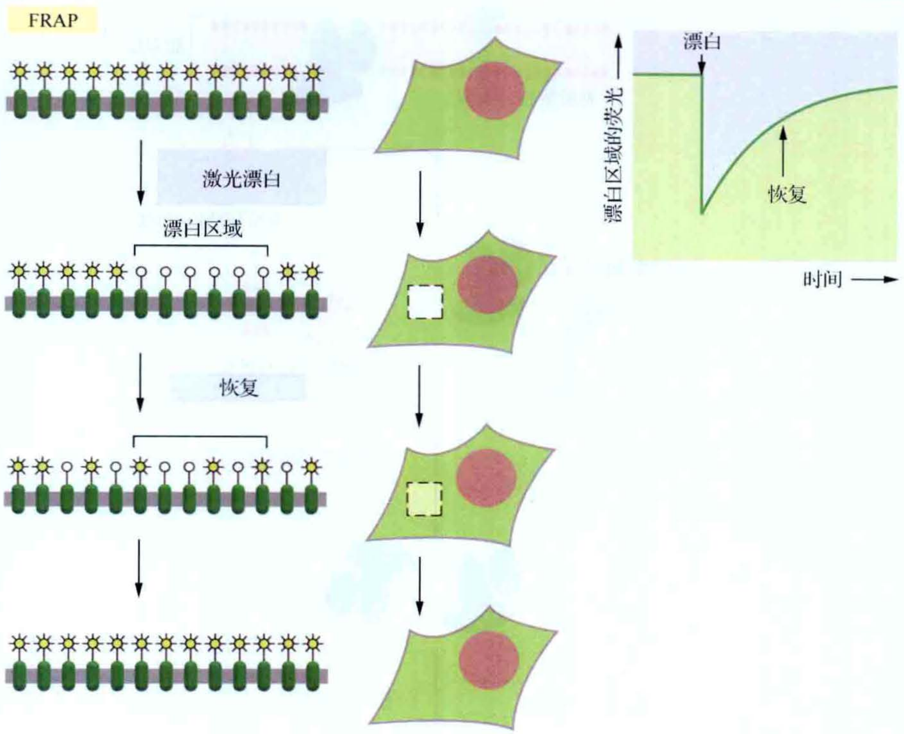


图 11-36 漂白技术能被用于测量膜蛋白侧向运动的速率。受关注的一个特异蛋白被标记上荧光抗体(如图所示)或被表达成带有 GFP 自发荧光的融合蛋白。FRAP 技术中,一小块区域的荧光分子被激光束漂白。由于已漂白的分子扩散离开,同时未漂白分子扩散进入受辐照区域(这里显示侧面和顶面观),受辐照区域荧光密度恢复。从恢复速率的图表中能计算出扩散系数:膜蛋白的扩散系数越大,荧光密度恢复越快。

为了避开这个问题,研究者发明了标记和追踪单个分子或一小串分子的运动的方法。这种技术被称为单粒子追踪(SPT)显微镜,依靠带有金颗粒的抗体标记蛋白质分子。金颗粒在显微镜下表现为微小的黑点,它们的运动,也就是单个标记蛋白质的运动能被视频显微镜所追踪。

迄今为止的研究表明,膜蛋白能表现出各种运动模式,从随机扩散到完全不能运动(图 11-37)。一些蛋白质的运动方式在这些不同种类之间切换。

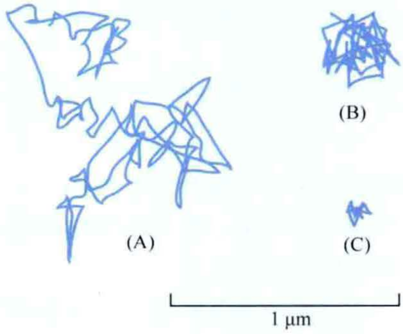


图 11-37 蛋白显示不同的运动模式。单粒子追踪研究揭示了活细胞表面真实蛋白的一些运动轨迹。这里显示的是质膜上不同种类蛋白质的一些轨迹。(A)一个在质膜上自由随机扩散的蛋白质的轨迹。(B)一个被其他蛋白质限制在一个小的膜区的蛋白质的轨迹。(C)一个被系在细胞骨架上因而基本上不动的蛋白质的轨迹。蛋白质的运动在几秒钟内被检测。

摆脱细胞

最后,研究者经常希望在没有其他限制蛋白质运动或活性的分子存在的情况下单独地研究特定的膜蛋白的行为。为了达到这个目的,他们把膜蛋白从细胞中分离出来并重建到人工磷脂囊泡中(图 11-38)。由于脂质可使分离出来的蛋白质维持其正确的结构,因此能详细地分析这些纯化的蛋白质的活性和行为。

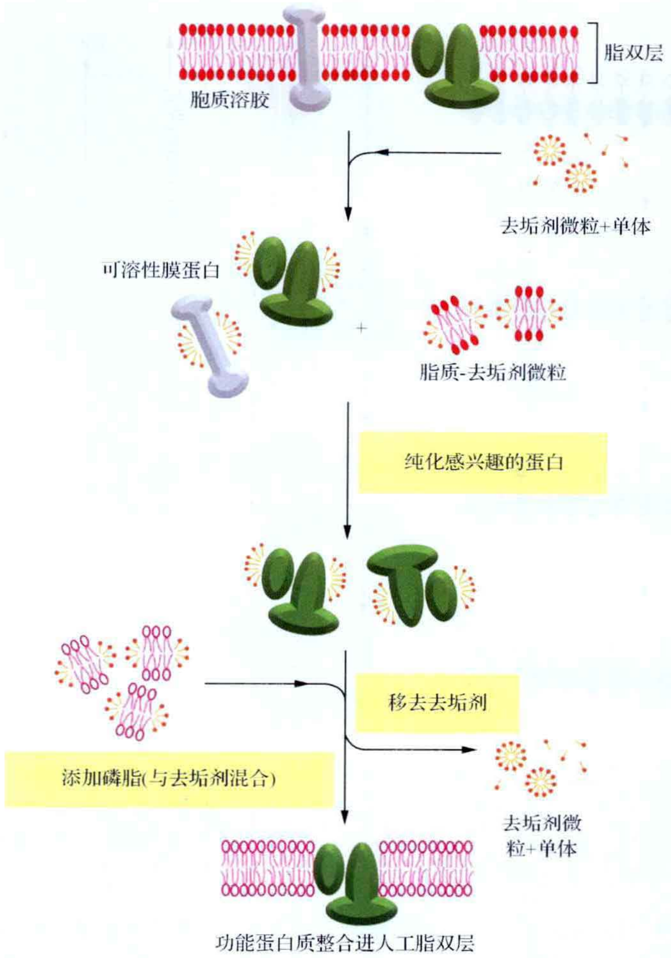


图 11-38　温和的去垢剂用于溶解和重组有功能的膜蛋白。

结果非常明显，膜蛋白在人工脂双层中比在细胞膜上扩散更自由且更快。蛋白质在细胞膜中的流动性受到限制这一现象是说得通的，因为比起人工脂双层来，细胞膜中充满了各种蛋白质，而且含有更多种类的脂质。而且，许多膜蛋白是处于系在胞外基质的蛋白质上，或锚定在质膜下卷起的细胞骨架成分上，或是两者都有的状态(图 11-33)。

综上所述，这些膜分子运动的研究揭示了细胞膜架构和组织的信息，给我们提供了膜的动态流动镶嵌形式的更准确的图像。

通过形成一层物质覆盖质双层，糖基化层保护细胞表面免受机械和化学损伤。由于糖基化层中的寡糖和多糖吸收水，因此使细胞表面变黏。这个覆盖层有助于像白细胞这样的可迁移细胞挤过狭窄的空间，并且防止血细胞之间及血细胞与血管壁之间的粘连。

然而，细胞表面的糖类不仅仅保护和润滑细胞。它在细胞与细胞间的识别和黏附方面具有重要作用。正如许多蛋白会识别并结合到另一个蛋白质的特定部位一样，有些蛋白质(称为凝集素)专门识别特殊的寡糖侧链并与之结合。糖蛋白和糖脂的寡糖侧链尽管短(一般少于 15 个糖单位)，但它们有巨大的多样性。不像多肽(蛋白)链上的氨基酸都是由相同的肽键线性地连接在一起(图 11-22)，糖类能以不同的排列连接在一起，经常形成分支链(图版 2-3)。甚至三个糖都能以各不相同的共价键组合以形成上百个不同的三糖。

因此在多细胞生物中，糖基化层可以像警察的制服一样作为一种独特的服装种类，专门用于体现具有某个特殊功能的细胞的特征，并被必须与之相互作用的其他细胞所识别。例如，糖基化层中的特殊寡糖参与了精子与卵子的识别(在第 19 章讨论)。同时，它们也参与炎症反应。在细菌感染的早期阶段，称为**中性粒细胞**的白细胞表面的糖类被感染部位的血管内衬细胞上的凝集素所识别。这种识别过程引起中性粒细胞黏附到血管上，然后从血流中迁移到感染组织内，在那里它们帮助清除入侵的细菌(图 11-39)。

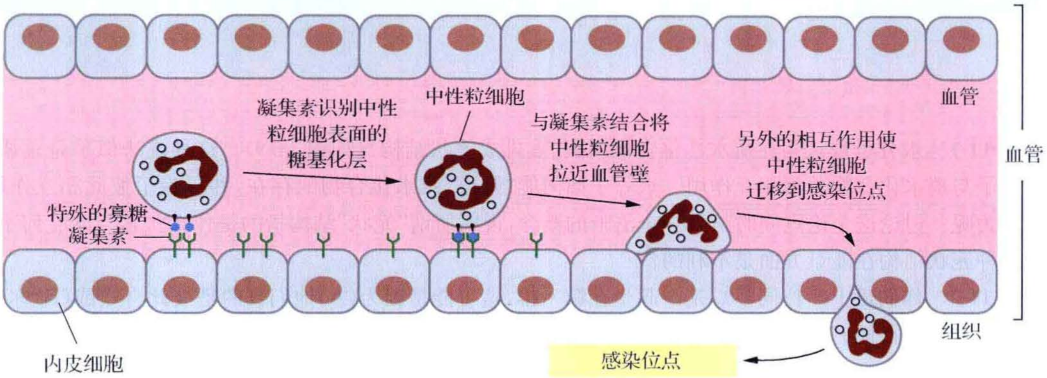


图 11-39　在感染部位，识别中性粒细胞细胞表面的糖基化层是它们从血液中迁移出来的第一阶段。血管壁上的细胞(称为内皮细胞)对感染部位发出的化学信号做出响应后产生特定的跨膜蛋白(称为凝集素)。这些蛋白识别血液循环中的中性粒细胞表面的糖脂和糖蛋白所带的特殊种类的糖，中性粒细胞因此黏附到血管壁上。这种结合并不是很强，但是它导致另一种很强的蛋白质-蛋白质相互作用(未显示)，这种较强的相互作用帮助中性粒细胞从内皮细胞之间迁移出来离开血液到达感染部位的组织(视频 11.6)。

糖蛋白是膜蛋白家族中的重要成员。在下一章，我们将继续讨论将各种分子转运入和转运出细胞的跨膜蛋白的复杂功能。

基本概念

- 细胞膜使细胞建立起屏障，把特定分子限定在特定区室内。
- 细胞膜由镶嵌着蛋白质的连续两层(双层)脂质分子组成。
- 脂双层给所有细胞膜提供了基本结构和屏障功能。
- 膜脂质分子同时具有疏水和亲水两种区域。当膜脂质分子置于水中时，它们会自发地聚集成双层，形成破裂后可重新密封的封闭区室。
- 膜脂质分子有三大类：磷脂、固醇、糖脂。
- 脂双层具流动性，单个脂质分子能在其自己所在的单层内扩散；但是它们不能自发地从双层的一个单层翻转到另一单层。
- 质膜的两层脂质组成成分不同，反映出细胞膜的两个面有不同的功能。
- 一些细胞通过改变膜的脂质成分来调节膜的流动性。
- 膜蛋白负责膜的大部分功能，例如，转运水溶性小分子穿过脂双层。
- 跨膜蛋白通常以一个或多个 α 螺旋穿过脂双层，但有时以圆筒状 β 折叠穿过脂双层。
- 一些膜蛋白不延伸穿过脂双层，而是通过非共价键与其他膜蛋白相连或以共价键与脂质相连的方式连接在膜的一面或另一面上。
- 大多数细胞膜由一个相连着的蛋白质框架所支撑。例如，在质膜下形成细胞皮层的纤维蛋白网络。
- 虽然许多膜蛋白能在膜平面内迅速地扩散，但细胞通过一些方法，把蛋白质限制在特定的膜域，并把一些特殊蛋白质连接到胞内或胞外的大分子上，从而限制这些蛋白质的运动。

• 暴露在细胞表面的许多蛋白质和一些脂质与糖链连接，有助于保护和润滑细胞表面以及参与细胞与细胞之间的识别。

关键词

饱和的	两亲性	膜域	糖基化层	质膜
不饱和的	磷脂	膜域	细菌紫膜质	
胆固醇	磷脂酰胆碱	去垢剂	脂双层	

问题

问题 11-1 水分子被认为在疏水性化合物周围“重排成笼状结构”（如图 11-9）。这种说法似乎是荒谬的，因为水分子与疏水化合物并不相互作用。水分子如何能“知道”疏水化合物的存在，并且为了彼此相互作用而改变其行为呢？讨论这个论点同时给出一个清晰的概念，说明所谓“笼状”结构指的是什么？它与冰有何不同？为什么这种笼状结构在能量方面是不利的？

问题 11-2 你们班上 5 位同学总是一起坐在第一排，这可能是因为（A）他们真的是彼此喜欢或（B）你们班上没有其他人想坐在他们旁边。哪种解释符合脂双层的装配呢？说明原因。假定另一种解释符合脂肪分子，那么脂双层的性质将会有何不同？

问题 11-3 脂双层是可以流动的也是不对称的，这似乎自相矛盾。请解释原因。

问题 11-4 解释为什么大多数膜蛋白的多肽链以 α 螺旋或者 β 折叠的方式穿过脂双层。

问题 11-5 请解释，对于图 11-26 中显示的两种去垢剂，为什么分子的红色部分是亲水的，蓝色部分是疏水的。应用类似的配色方案画一小段由三个氨基酸组成的含疏水侧链的（图版 2-5）多肽链。

问题 11-6 观察图 11-29 中光合反应中心的结构。如你预期，有许多 α 螺旋穿越膜。然而，在右下角，L 亚基的一段多肽链在脂双层的疏水核心内伸展形成不规则环，这是否可颠覆跨膜蛋白以 α 螺旋或 β 折叠穿过脂双层这个通用规则呢？

问题 11-7 仔细观察图 11-31 中显示的跨膜蛋白。关于它们在膜中的流动性，你能讲些什么？

问题 11-8 叙述几种细胞采用的把蛋白质限制在质膜特定区域的方法。一个带有许多锚定蛋白质的膜仍是流动的吗？

问题 11-9 以下陈述哪几种是正确的？并解释你的答案。

A. 脂双层内的脂质围绕其长轴迅速地旋转。

B. 脂双层内的脂质在膜平面内互相迅速地交换位置。

C. 脂双层的脂质不容易从一侧脂质单层翻转到另一单层。

D. 脂质头部基团和水分子之间形成的氢键不断地断裂和再形成。

E. 在糖脂合成期间，糖脂穿过不同膜被区室，但它始终被限制在脂双层的一个侧面。

F. 人造黄油比它的原料植物油含有更多的饱和脂质。

G. 有些膜蛋白是酶。

H. 包被整个细胞的糖衣使细胞更润滑。

问题 11-10 术语“二维流体”含义是指什么？

问题 11-11 脂双层的结构由其脂质分子的特殊性质所决定，假如出现下列情况之一，将会怎么样？

A. 磷脂只有一条烃链而非两条？

B. 烃链比正常的短，比方说只有约 10 个碳原子长？

C. 所有的烃链都是饱和的？

D. 所有的烃链都是不饱和的？

E. 脂双层含有混合的两种脂质分子，一种具有两条饱和的烃尾，另一种具有两条不饱和的烃尾？

F. 每个脂质分子通过其中一条烃链的末端碳原子与对面单层中的一个脂质分子共价连接？

问题 11-12 脂质分子与去垢剂分子有什么区别？脂质分子的结构需要如何改变，才能使其成为去垢剂分子？

问题 11-13 A. 脂质分子以每 10^{-7} s 一次的速度与其邻近分子交换位置。一个脂质分子从约 2 μm 长的细菌细胞的一端扩散到另一端的时间大约为 1 s。这两个数值一致吗(假设脂质头部基团的直径约 0.5 nm)？若不一致，你能解释这种差异的原因吗？

B. 为了估算分子运动的最高运动速度，假设脂质头部基团约为乒乓球大小(直径 4 cm)，把这些乒乓球墙到墙挨个铺满你房间的地板(6 m×6 m)。如果邻近两球每 10^{-7} s 交换一次位置，那么它们的交换速度应该是每小时多少千米？一个球从房间的一端运动到另一端需要多长时间？

问题 11-14 为什么红细胞膜需要蛋白质？

问题 11-15 想象跨膜蛋白形成了跨越真核细胞质膜的亲水孔，当一个特异配体结合在真核细胞外表面并激活该细胞时它允许 Na^+ 进入细胞。这个跨膜蛋白由 5 个相似的跨膜亚基组成，每个亚基含有跨膜 α 螺旋，α 螺旋的一个侧面上有亲水氨基酸侧链，相对的另一面上有疏水氨基酸侧链。从这个蛋白质作为 Na^+ 进入细胞的通道功能角度考虑，指出膜内 5 个跨膜 α 螺旋可能的排列。

问题 11-16 在人红细胞膜上，蛋白质(平均分子量 50 000)与磷脂(分子量 800)和胆固醇(分子量 386)的质量比大约为 2∶1∶1，那么相对每个蛋白质分子约有多少脂质分子？

问题 11-17 参考图 11-32，画一个示意图，表现在细胞融合期间两层质膜靠在一起时的全貌。利用不同颜色的荧光抗体分子在膜外表面分别标记这两个细胞的膜蛋白。在你的示意图中指出随着细胞融合这些有色标记物的命运。在下列情况下，这些颜色标记将仍然只在杂交细胞的外表面吗？(a)细胞融合后；(b)在 37℃温育中，发生的膜蛋白混合后。如果在 0℃温育，实验结果将会有何不同？

问题 11-18 比较维持膜蛋白在脂双层内的疏水作用力和帮助蛋白质折叠为独特三维结构的力的异同。

问题 11-19 预测下列哪种生物在其膜中含有最高比例的不饱和磷脂。解释你的答案。

A. 南极鱼类
B. 沙漠蛇
C. 人类
D. 北极熊

问题 11-20 以下三种由单字母氨基酸符号表示的 20 个氨基酸序列中，哪个序列最有可能形成一个跨膜蛋白的跨膜区(α 螺旋)？解释你的答案。

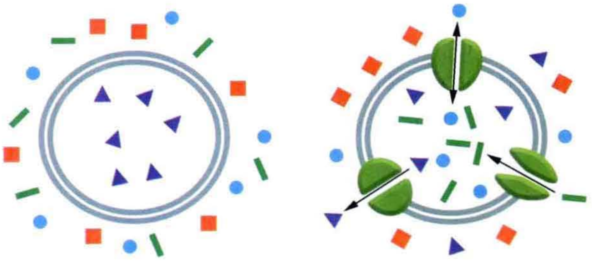
A. I T L I Y F G N M S S V T Q T I L L I S
B. L L L I F F G V M A L V I V V I L L I A
C. L L K K F F R D M A A V H E T I L E E S

(胡锐颖　冯晓艳　译)

12 膜 转 运

12.1　膜转运的基本原理
12.2　载体蛋白及其功能
12.3　离子通道和膜电位
12.4　神经细胞的离子通道和信号转导

细胞为了生存和生长，必须与其环境交换分子。而细胞膜能够调控分子进出细胞，从而起到屏障的作用。从第 11 章中我们知道，由于细胞膜脂双层内部具有疏水性，因此几乎所有水溶性分子都不能通过。但是各种水溶性分子又必须能够通过质膜：细胞必须输入像糖和氨基酸这些营养物质，必须排出像 CO_2 这样的废物，必须调节像 H^+、Na^+、K^+ 和 Ca^{2+} 这些离子的细胞内浓度。其中少数溶质如 CO_2 和 O_2，能够简单地扩散通过脂双层，而绝大多数溶质则不能。为此这些溶质的转运依赖于一种跨膜的**膜转运蛋白**，它为所需物质的转运提供了专属的跨膜通道（图 12-1）。



(A) 无蛋白质的人工脂双层　　(B) 细胞膜

图 12-1　特化的膜转运蛋白担负转运小的水溶性分子穿越细胞膜的任务。无蛋白质的人工脂双层对大多数水溶性分子是不通透的(A)，而细胞膜不是这样(B)。注意：在细胞膜中每一种类型的转运蛋白只转运特定类型的分子，使得有选择的一套溶质最终位于膜包围的区室内。

在本章中，我们将探讨细胞膜是如何调节小分子进出细胞的。细胞也能选择性地转运像蛋白质这样的大分子穿过其膜，但需要更精细复杂的结构，这将在第 15 章中讨论。这里，我们从水溶性小分子进出细胞膜的一些基本概念开始讲起。接着我们将探讨介导这种转运的两类主要的膜转运蛋白。一类为载体蛋白，它的一部分可以活动，经过其自身构象的改变，能够把溶质从膜的一侧转运到另一侧。用这种方式转运的溶质，既可以是小的有机分子，也可以是无机离

子。另一类是通道蛋白，与载体蛋白不同，它在膜中形成极小的亲水孔，溶质能扩散通过该孔。多数通道蛋白只让无机离子通过，因而称为离子通道。由于离子是带电荷的，它们的运动能产生相当大的跨膜电势。在本章的最后我们将讨论这种跨膜电势如何完成神经细胞间的通讯交流，据此大脑可以实现一系列令人惊讶的行为。

12.1 膜转运的基本原理

为了给膜转运的讨论提供基础，我们先考虑细胞内与其外环境之间离子成分的差别，这将有助于弄清楚为什么以载体蛋白和离子通道进行的离子转运对于细胞是如此重要。

12.1.1 细胞内外的离子浓度差异很大

细胞内部的离子成分与其周围液体中的离子成分维持着很大差别，这对细胞的生存和功能起决定性作用。像 Na^+、K^+、Ca^{2+}、Cl^- 这样的无机离子和 H^+（质子）是细胞环境中最为丰富的溶质，它们穿越细胞膜的迁移是许多生物学过程的必不可少的部分，这种迁移在神经细胞功能中（这将后述）和在所有细胞 ATP 的产生中（将在第 14 章中讨论）都起着主要的作用。

Na^+ 是细胞外最丰富的带正电荷离子（阳离子），而 K^+ 是细胞内最为丰富的带正电荷离子（表 12-1）。假如一个细胞不想被静电力一撕两半，细胞内的正电荷量必须被几乎等量的负电荷平衡，而细胞周围液体中的电荷也同样如此。但是，集中在质膜附近的正电荷或负电荷微小地过量是允许的，而且具有重要的电效应，我们会在后文讨论。细胞外高浓度 Na^+ 主要由胞外的 Cl^- 平衡，胞内高浓度 K^+ 由细胞内各种带负电荷的离子（阴离子）平衡。

细胞内外环境离子分布的差异一部分由细胞膜转运蛋白调控，另一部分则取决于细胞膜自身脂质双分子层的通透性。

表 12-1 典型哺乳动物内外离子浓度的比较

成分	细胞内浓度/(mmol/L)	细胞外浓度/(mmol/L)
阳离子		
Na^+	5～15	145
K^+	140	5
Mg^{2+}	0.5	1～2
Ca^{2+}	10^{-4}	1～2
H^+	7×10^{-5}（$10^{-7.2}$ mol/L 或 pH 7.2）	4×10^{-5}（$10^{-7.4}$ mol/L 或 pH 7.4）
阴离子*		
Cl^-	5～15	110

* 细胞内必须含有相同量的正电荷和负电荷（也就是说，必须呈电中性）。因此，除了 Cl^-，细胞还有很多别的阴离子，表中未一一列出；事实上，大多数细胞营养物带有负电荷（HCO_3^-，PO_4^{3-}，蛋白质，核酸，带磷酸根和羧酸根的代谢物等）表中所给的 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 浓度是指胞质溶胶中的游离离子。细胞内共有约 20 mmol/L Mg^{2+} 和 1～2 mmol/L Ca^{2+}，但是大多数与蛋白质和其他物质结合，许多细胞 Ca^{2+} 储存在各种细胞器中。

12.1.2 脂质双分子层对于溶质和离子是不可渗透的

脂质双分子层内部的疏水性质导致包括离子在内的亲水性分子不能自由通过。正如让那些疏水性分子排斥进入水环境一样，亲水性分子排斥进入这种脂类性质的环境。但是如果时间足够长，几乎任何分子都可以从脂质双分子层的一侧扩散到另一侧，而其扩散的速度主要取决于分子的大小和溶解性。总体来说，越小越能在脂环境中溶解的分子（脂溶性越强或者是非极性分子），其扩散的速度就越快。具体如下。

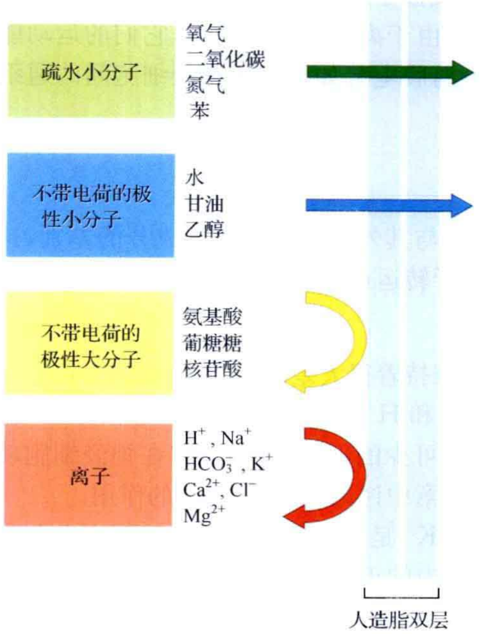


图 12-2 分子通过人工脂双层的速率与它的分子大小和溶解性有关。分子越小，更加重要的是它的疏水性越强（也就是说，极性越弱），其通过脂双层的速率就越快。注意，很多作为细胞营养物的分子都是极性分子，分子也很大，不足以通过一个纯粹的脂双层。

（1）非极性小分子，如分子氧（O_2，分子质量 32 Da）和二氧化碳（CO_2，44 Da），能够轻而易举地溶解于脂质双分子层并且快速地穿越它。事实上，细胞需要这一对气体的通透性完成自身的呼吸过程，这将会在第 14 章中讨论。

（2）不带电荷的极性分子（从整个分子来看，电荷的分布是不均匀的），如果分子足够小，也能够顺利通过双分子层。例如，水（18 Da）和乙醇（46 Da）可以快速通过；甘油（92 Da）通过稍慢，而葡萄糖几乎不能通过（图 12-2）。

（3）相反地，脂质双分子层对于所有离子和带电分子来说不论它们的分子有多小，都是不可通透的。这类分子自身带有的电荷以及它们对水分子较强的电吸引都足以抑制其进入双分子层的疏水相。因此，人造双分子层对于水的渗透性比诸如 Na^+ 或 K^+ 这类小离子的通透性要高出 10 亿（10^9）倍。

水分子和非极性小分子能够通过简单扩散的方式通过细胞膜。但是，细胞为了能够摄取养分和排除废物，更多的其他分子，如离子、糖类、氨基酸、核苷酸和细胞代谢物，也必须能够通过细胞膜。转运这类分子通过细胞膜，单靠简单扩散的方式，其转运速度实在太过缓慢，所以需要特殊的膜转运蛋白来有效地转运这类分子通过细胞膜。

12.1.3 膜转运蛋白分为两种类型：载体蛋白和通道蛋白

膜转运蛋白具有多种结构，存在于各种类型的生物膜上。每一种蛋白在膜上只转运某一类特定的分子——如离子，糖类或是氨基酸。这些蛋白大门的大部分甚至还是排他的，只允许特定分子类型中的特定的成员通过：例如，有的仅仅对 Na^+ 开放，而不允许 K^+ 进出，还有一些则刚好相反。存在于细胞膜或是细胞器膜上的膜转运蛋白是决定溶质能否进出细胞或细胞器的关键。每一种类型的细胞膜都有一套具有其自身特色的载体蛋白。

正如在第 11 章中讨论的，已被详细研究的膜转运蛋白具有多次跨越脂双层的多肽链——它们是一种多次穿越的跨膜蛋白（图 11-24）。多肽链来回穿越双层膜形成了一个连续的由蛋白质铺设的通路，选择性地允许小的亲水分子不直接接触脂双层疏水性的内部而直接穿越膜。

膜转运蛋白分为两种主要的类型：载体蛋白和通道蛋白。载体蛋白与通道蛋白之间的根本区别是它们辨别溶质的方式，即决定运输某些溶质而不运输另外一些（图 12-3）。**通道蛋白**主要根据大小和电荷进行辨别：假如这个通道处在开放状态，那么离子或足够小的和带有适当电荷的分子就能溜过通道，就如通过一扇敞开着但又狭窄的活动门。而**载体蛋白**更像一扇旋转式栅门：它只允许与蛋白质上结合部位相适合的分子或离子通过，而且每次都以改变自身构象而转运这些分子穿过膜。如同酶结合其底物载体蛋白专一性地结合它们的溶质，也就是这个对专一性结合的要求，使这类转运蛋白成为有选择性的。

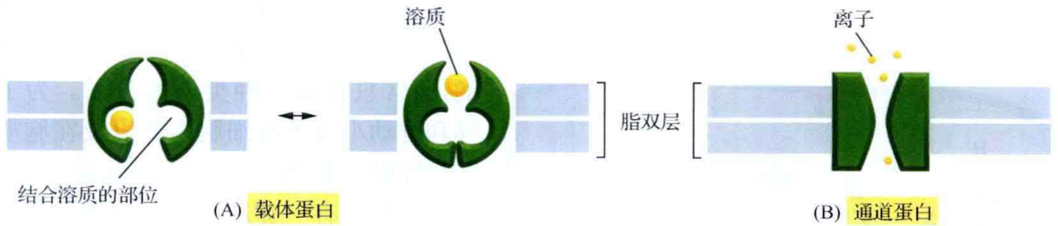


图 12-3 小分子或离子通过载体或通道进入细胞。(A)载体蛋白进行一系列构象变化来转运小的水溶性分子穿过脂双层。(B)相反的,通道蛋白形成穿越双层的亲水孔,使得特殊的无机离子或其他小分子经过亲水孔扩散。正如所料,通道蛋白转运速率比载体快很多。离子通道既能以开放又能以关闭的构象存在,但只有在开放状态时转运,如图所示。它们的开放或关闭通常由细胞外刺激或胞内条件调控。

12.1.4 溶质通过被动转运或主动转运穿过膜

载体和通道使得小分子得以通过细胞膜,但是是什么因素调控这些溶质进入细胞或是转运出细胞呢?很多情况下,溶质的相对浓度决定了其转运的方向。倘若存在一条小的通路,分子自动地从高浓度区域向低浓度区域迁移"下坡",这种迁移是被动的,因为它们不需要其他驱动力。譬如,细胞外的一种溶质浓度高于胞内,并且质膜中存在合适的通道或载体蛋白,则该溶质将以**被动转运**方式顺浓度梯度自发地穿过膜进入细胞内(有时称为易化扩散),转运蛋白没有消耗能量。所有通道蛋白和很多载体蛋白都是被动转运的导管。

然而,如果一种溶质想逆着它的浓度梯度移动,则必须由转运蛋白做这项工作:转运蛋白必须与提供能量的一些其他过程耦合以驱动"上坡"式流动(如第 3 章中讨论的酶反应)。以这种方式驱动的跨膜溶质移动被命名为**主动转运**,只有一些特殊类型的载体蛋白利用某些能源作这种转运过程的动力(图 12-4)。由于这种转运蛋白是逆着溶质的浓度来转运的,它们多被称为泵。我们对于这类转运蛋白,包括主动转运和被动转运,都进行了研究,看它们是如何运输分子通过细胞膜的。

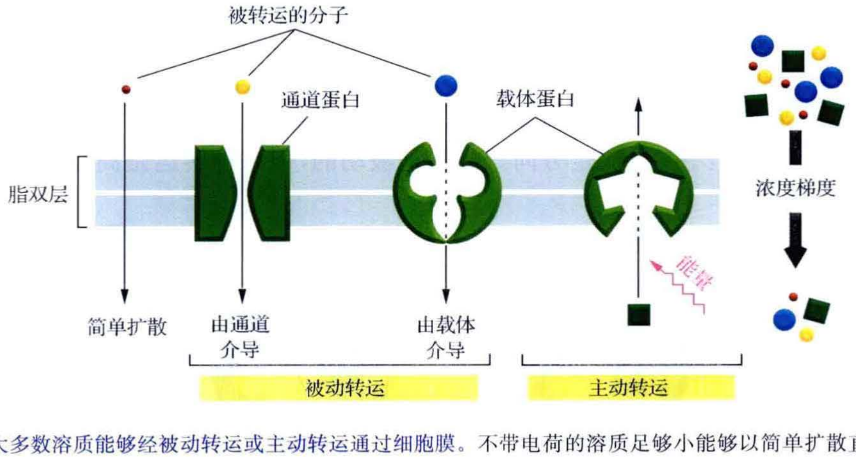


图 12-4 大多数溶质能够经被动转运或主动转运通过细胞膜。不带电荷的溶质足够小能够以简单扩散直接穿过脂双层。然而,许多溶质需要有载体蛋白或通道蛋白协助它们转运。如图所示,被动转运朝着与浓度梯度相同的方向自动地进行,而逆着浓度梯度的转运(主动转运)需要输入能量。只有载体蛋白能够进行主动转运,但是载体蛋白和通道蛋白两者都可以进行被动转运。

12.2 载体蛋白及其功能

除了脂溶性分子和小的不带电荷的分子能以简单扩散的方式直接通过脂双层外,几乎所有

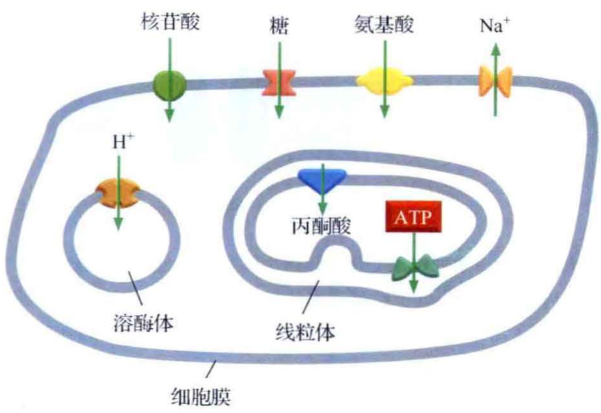


图 12-5 每个细胞膜都有它自己特有的一套载体蛋白。

的小有机分子穿越细胞膜都需要载体蛋白（图 12-2）。每一种载体蛋白是高度选择性的，通常只转运一种类型的分子。为了引导和推动小分子在细胞内外以及在胞质溶胶与膜被细胞器之间的复杂运输，每一种细胞膜都含有一套适合于特殊膜的不同载体蛋白。例如，质膜中具有输入营养物如糖、氨基酸和核苷酸的载体；溶酶体膜中含有 H^+ 载体，能够酸化溶酶体的内容物；线粒体内膜中具有输入用作产生 ATP 的燃料的丙酮酸载体以及输出产生的 ATP 的载体（图 12-5）。

尽管我们现在只知道极少一部分载体转运溶质的具体分子机制，但是对载体蛋白功能的基本原理已经有了很好的认识。

12.2.1 浓度梯度和电势能驱动被动转运

溶质能够通过主动转运和被动转运通过细胞膜——而载体可以介导这两种不同的转运方式（图 12-4）。一个简单的介导被动转运的载体蛋白的例子是在哺乳动物肝细胞和许多其他类型的细胞质膜中发现的葡萄糖载体，它由至少 12 次穿过膜的多肽链组成。一般认为该蛋白质能采用至少两种构象，在这几种构象之间可逆且随机地转换。采用一种构象时，载体把葡萄糖结合部位暴露在细胞外；采用另一种构象时，它把这个部位暴露于细胞内（图 12-6）。当肝细胞外富含葡萄糖时，如餐后，葡萄糖分子结合到显露在外面的结合部位上。随着蛋白质更换构象，它运载这些葡萄糖分子进入胞内，并把它们释放到葡萄糖浓度低的胞质中。相反，血糖水平比较低——如饥饿的时候——激素胰高血糖素刺激肝细胞降解糖原，产生大量的葡萄糖。结果，细胞内的葡萄糖浓度高于细胞外，葡萄糖与载体蛋白上显露在里面的部位结合，此时蛋白质以相反方向变换构象，葡萄糖被转运出细胞。因此，根据膜内外葡萄糖浓度梯度的方向，葡萄糖能双向流动：如果细胞外的葡萄糖浓度高于胞内，则输入；相反则输出。这种类型的转运蛋白以被动转运进行溶质流动，但不参与决定方向。虽然是被动的，但这种转运是高度选择性的：例如，

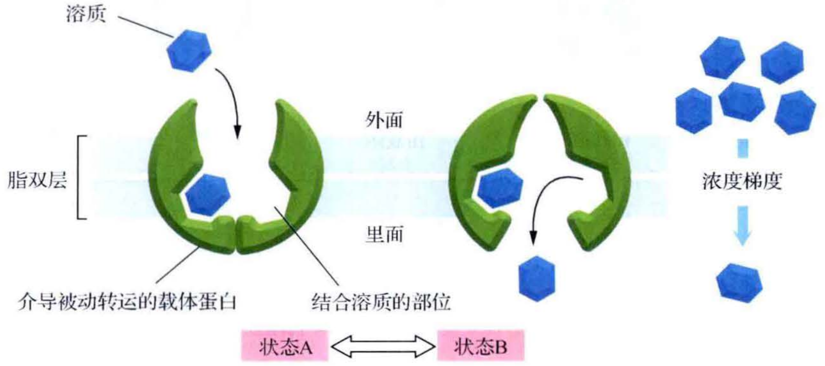


图 12-6 载体蛋白的构象变化能够介导像葡萄糖这种溶质的被动转运。在这个模型中，载体蛋白以两种构象存在：状态 A，溶质的结合部位暴露于膜外；状态 B，同样的部位暴露于膜内。一般认为，这两种状态的转变是随机发生的，与溶质是否结合于其上无关，是完全可逆的。倘若膜外该溶质的浓度较高，则采用 A→B 转运溶质入细胞比 B→A 转运溶质出细胞更为频繁，结果将有一顺其浓度梯度下行的溶质净转运。

葡萄糖转运蛋白上的结合部位只结合 D-葡萄糖，而不结合它的对映体 L-葡萄糖。细胞不能利用 L-葡萄糖进行糖酵解。

葡萄糖是一种不带电荷的分子，它的被动转运方向简单地由浓度梯度决定。对于带电荷的分子，无论是小的有机离子还是无机离子，还含有另外的力参与其中。由于一些原因（我们以后要解释），许多细胞膜有跨膜电压，膜两边存在电位差，称为膜电位。这种电位差导致任何带电荷分子都受到力的影响。相对于质膜的胞外侧，质膜的胞质面通常处于负电位，这势必吸引带正电荷的溶质进入细胞和驱动带负电荷的溶质移出细胞，同时，带电荷溶质也会顺它的浓度梯度下行。

因此，驱动带电荷溶质跨膜的净力是由两种力组成，其一是由于浓度梯度，其二是由于跨膜电压。这种净驱动力称为该溶质的**电化学梯度**。就是这个梯度，决定了被动跨膜转运的方向。对于某些离子，电压和浓度梯度以相同的方向工作，产生比较陡的电化学梯度（图 12-7A）。例如，Na^+ 就是这种情况，它带有正电荷，细胞外的浓度高于胞内，因而一旦有机会，Na^+ 倾向于进入细胞。但是倘若电压和浓度梯度呈相反效应，结果电化学梯度趋小（图 12-7B）。K^+ 的状况正是如此，细胞内 K^+ 浓度大大地高于细胞外。由于相反效应，不管 K^+ 浓度梯度有多大，它的跨膜电化学梯度是小的，因此几乎没有 K^+ 跨膜移动。

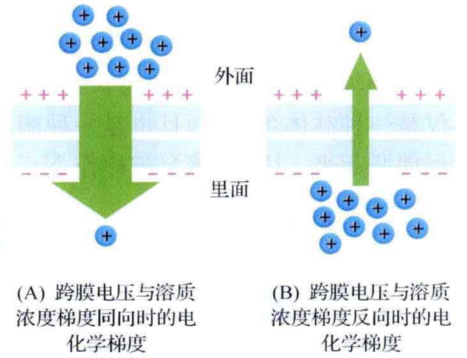


图 12-7 电化学梯度有两种组分。使带电溶质（离子）穿过膜迁移的净驱动力（电化学梯度）是溶质的浓度梯度和跨膜电压（膜电位，如图在细胞膜上以“＋”和“－”表示）之总和，绿色箭头的宽度表示相同正电荷溶质在两种不同情况下的电化学梯度量值：(A) 膜电位补充了浓度梯度造成的驱动力；(B) 膜电位对抗浓度梯度，减小了对溶质的驱动力。

12.2.2 主动转运使溶质逆它们的电化学梯度迁移

当然，细胞不能只靠被动转运。要维持细胞内离子组成和输入那些胞外比胞内浓度低的溶质，溶质逆着它们的电化学梯度的主动转运是必需的。细胞进行主动转运主要以三种方式进行（图 12-8）：①偶联转运蛋白把一种溶质穿过膜的上坡转运与另一种溶质的下坡跨膜转运相偶联；②ATP 驱动泵把上坡转运与 ATP 的水解偶联；③光驱动泵，主要在细菌中发现，像前面提及的细菌紫膜质，能把上坡转运与光能的输入偶联起来（见图 11-28）。

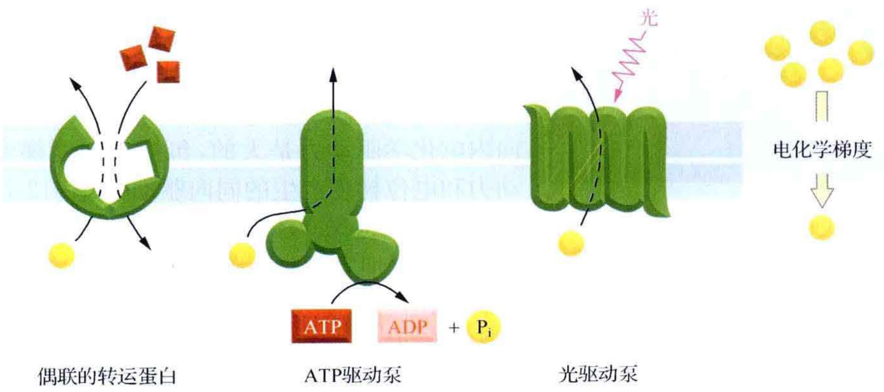


图 12-8 驱动主动转运的三种方式。黄色表示主动转运分子，红色表示能源。

鉴于物质在下坡流动之前须先被运上坡去，因此不同形式的主动转运必定被偶联，所以在动物细胞质膜中，ATP 驱动的泵逆着 Na^+ 的电化学梯度把它运到细胞外，然后 Na^+ 可以顺着其电化学梯度流回细胞。因为 Na^+ 通过 Na^+ 偶联转运蛋白流动，所以 Na^+ 的内流驱动许多其他物质逆着它们的电化学梯度主动迁移到细胞内。假如 Na^+ 泵停止工作，Na^+ 梯度立即下降，通过 Na^+ 偶联转运蛋白的转运也停止。因而，ATP 驱动的 Na^+ 泵在动物细胞膜转运中起着主导作用。在植物细胞、真菌和许多细菌中，ATP 驱动泵起着类似的作用。它把 H^+ 泵出细胞，产生 H^+ 的电化学梯度，我们将在后面讨论。

12.2.3 动物细胞利用 ATP 水解的能量泵出 Na^+

在动物细胞中，ATP 驱动的 Na^+ 泵把 ATP 水解为 ADP，从而把 Na^+ 转运到细胞外，因此它不仅是一种载体蛋白，而且也是一种酶——ATP 酶。同时，它把 Na^+ 的向外转运与 K^+ 的向内转运偶联起来。因此，该泵被称作 Na^+-K^+ ATP 酶，或 **Na^+-K^+ 泵**（图 12-9）。

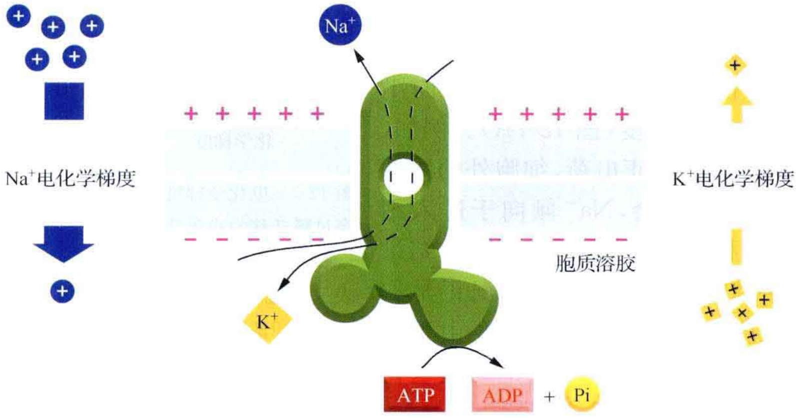


图 12-9 在动物细胞膜转运过程中 Na^+-K^+ 泵具有重要的作用。该载体蛋白利用 ATP 水解的能量把 Na^+ 泵出细胞并把 K^+ 泵入细胞，这泵入和泵出都逆其电化学梯度，尽管 K^+ 的电化学梯度接近于零。

这种载体蛋白在动物细胞的能量系统中起主要作用，据一般的估算，它要消耗总 ATP 的 30%或 30%以上。好似一条有漏洞的船的舱底抽水泵，它不停地排出 Na^+，而这些 Na^+ 是通过其他载体蛋白和离子通道不断地进入的。该泵以这种方式保持胞质溶胶中的 Na^+ 浓度为胞外液体中的 1/30～1/10，而 K^+ 的浓度比胞外液体中的高 10～30 倍（表 12-1）。在正常条件下，大多数细胞的胞内相对于胞外呈负电位，这样阳离子趋向于被吸引进入细胞。这就说明 Na^+ 的向内电化学驱动力是大的，包括有浓度梯度产生的驱动力和电位梯度产生的同向驱动力（图 12-7A）。

图 12-10 细胞外的 Na^+ 就像是堵在高水坝后面的大量水。水闸内的水具有势能，可用以驱动需能过程。同样道理，跨膜的离子梯度可以被于驱动细胞的主动过程，包括对其他分子的主动转运。图中所示的是南非 Blyde 河大坝。（蒙 Paul Franklin，Oxford Scientific Films 惠许）

细胞外的 Na^+，即它的电化学梯度的上坡一边，就像堵在高水坝后面的大量水，是一种非常大的能量储存（图 12-10）。即使人们用像植物葡糖苷乌本苷这类毒素人为地停止 Na^+-K^+ 泵的工作，这种储存的能量仍足以维持由 Na^+ 下坡流动所驱动的其他转运过程许多分钟。

K^+ 的情况就不同了，其电驱动力与 Na^+ 的相同，这仅依赖于这种离子携带的电荷；但是其浓度梯度正好方向相反。结果在正常条件下，K^+ 跨膜迁移的净驱动力接近零：推动 K^+ 进入细

胞的电势，几乎正好与趋向于驱动 K^+ 外出的浓度梯度相平衡。

12.2.4 Na^+-K^+ 泵由瞬时磷酸化所驱动

继第 3 章中讨论的原理之后，Na^+-K^+ 泵提供了一个说明蛋白质如何把一个反应与另一个反应耦合的极好例证，简图 12-11 阐述了 Na^+-K^+ 泵的循环性。Na^+ 与 Na^+-K^+ 泵暴露在胞内的部位相结合，激活 ATP 酶活性(第一步)；ATP 被裂解，释放 ADP 并把磷酸基团转移到该泵本身的高能键上，也就是泵自身磷酸化(第二步)；磷酸化引起该泵改变构象，以便释放细胞外表面的 Na^+，同时暴露了在同一面上的 K^+ 结合部位(第三步)；细胞外 K^+ 的结合(第四步)引发去除磷酸基团(第五步)，引起该泵变回到原来构象，把 K^+ 释放到细胞内(第六步)。整个周期耗时约 10 ms，然后反复进行。循环中的每一步取决于前一步，所以如果其中任何一步受阻，该泵的全部功能就会停止。这种紧密的耦合，保证了该泵只在有合适的离子可供转运时才工作，因而避免了无效的 ATP 水解。

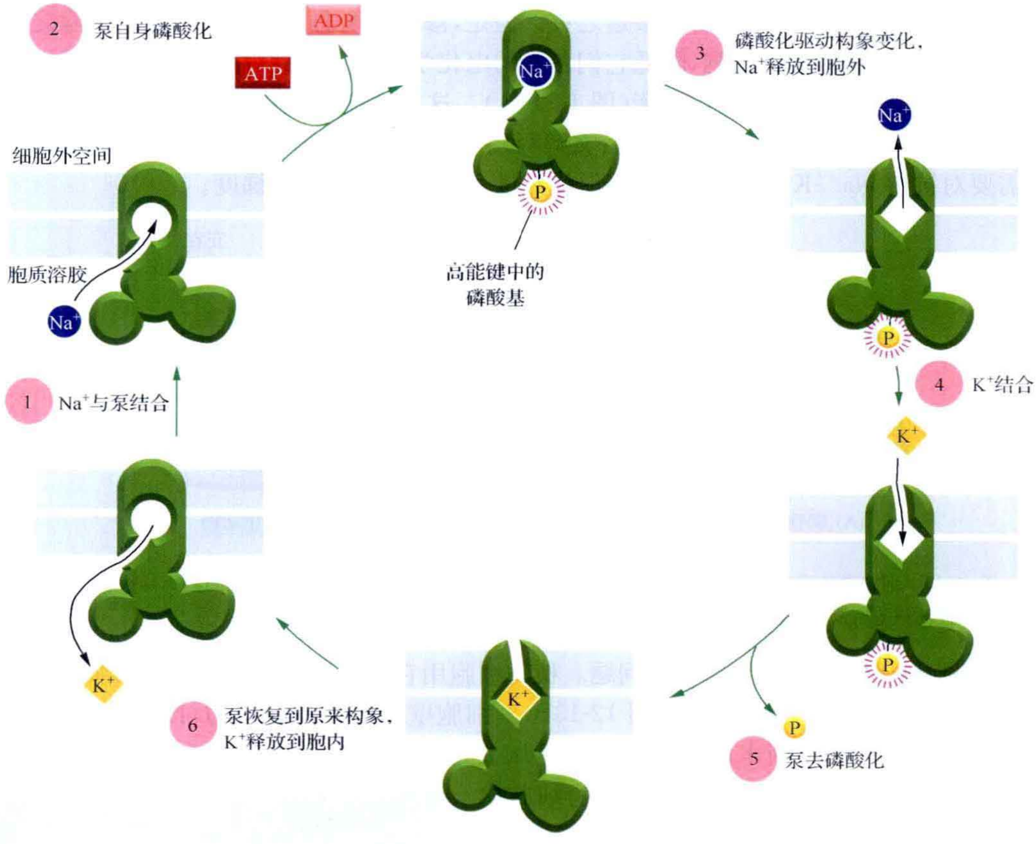


图 12-11　Na^+-K^+ 泵以循环方式转运离子。Na^+ 的结合(1)及随后在泵的胞质面由 ATP 进行的磷酸化(2)引起蛋白质构象的变化，转运 Na^+ 穿越膜并释放到胞外(3)，磷酸基与蛋白质的高能键连接提供能量，驱动构象变化。细胞外表面 K^+ 的结合(4)和随后去磷酸化(5)使蛋白质恢复到原来构象，如此转运 K^+ 穿越膜并释放到胞内(6)。这个循环在视频 12.1 中播放。这些构象的变化类似于图 12-6 中显示的A→B的转换，不同的是这里是依赖于 Na^+ 的蛋白质磷酸化和 K^+ 的去磷酸化以有规律的方式引起构象变化，使蛋白质做有用功。为了简单起见，图中只显示一个 Na^+ 的和一个 K^+ 的结合部位。在哺乳动物细胞真实的泵中有 3 个 Na^+ 和 2 个 K^+ 结合部位。因此，该泵一个循环的净结果是转运 3 个 Na^+ 到胞外和 2 个 K^+ 到胞内。乌本苷通过阻止 K^+ 结合对 Na^+-K^+ 泵起抑制作用。

12.2.5 Na^+-K^+ 泵帮助维持动物细胞的渗透压平衡

质膜对水是通透的(图 12-2)。假设溶质总浓度在膜的一边高，另一边低，那么水就会移动

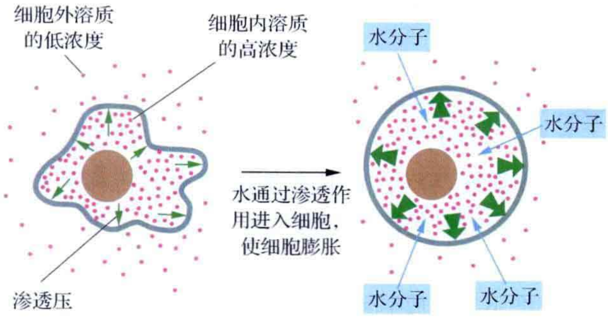


图 12-12　水分子的扩散称为渗透。如果细胞内的溶质浓度比胞外高，水将会渗透进入细胞，引起细胞膨胀；如果细胞处于高盐环境中，水就会渗出来（视频 12.2）。

穿过膜，直到溶质浓度平衡。这种水从低溶质浓度区域（高水浓度）向高溶质浓度区域（低水浓度）的移动称为**渗透**。细胞在细胞膜上有特殊的通路（称为水通道）能够帮助这种流动。水移动的驱动力与被称为**渗透压**的水压差相等。在没有其他任何平衡压力的情况下，水向细胞内的渗透移动将引起细胞的膨胀。这种作用对动物细胞是一个严重问题，因为动物细胞没有刚性的外壁以阻止细胞膨胀。细胞通常在纯水中膨胀直至破裂（图 12-12）。

动物身体组织中的细胞浸没在富含溶质，尤其是 Na^+ 和 Cl^- 的液体中，这样平衡了细胞内的有机和无机溶质的浓度，由此防止渗透之灾。但是，渗透平衡总是处于被干扰的危险之中，因为细胞外的溶质不断地渗进细胞，降低它们各自的电化学梯度。因此，细胞不得不连续地工作，泵出不需要的溶质，以维持渗透压平衡（图 12-13A）。这一功能主要由 Na^+-K^+ 泵执行，泵出渗进来的 Na^+。同时还帮助维持膜电位（后文解释）。膜电位趋向于阻止带有负电荷的 Cl^- 进入胞内，需要对抗由 Na^+-K^+ 泵产生的能够促使其进入细胞核的电化学梯度。

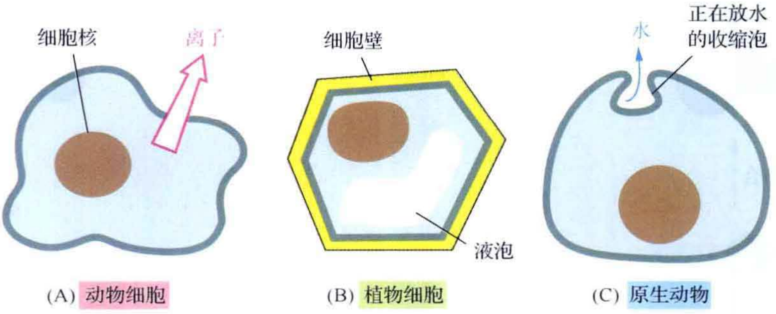


图 12-13　细胞避免渗透膨胀的三种方式。动物细胞以泵出离子维持细胞内溶质低浓度（A），植物细胞以刚性的细胞壁避免膨胀和破裂（B），原生动物以定期喷出进入细胞的水以避免膨胀（C）。

其他细胞以不同的方式解决渗透问题。植物细胞用它们坚韧的细胞壁制止膨胀和胀破，所以它们能忍受大的跨质膜渗透压差（图 12-13B）。细胞壁施以一反向压力，以平衡来自胞内溶质产生的渗透压，从而限制水进入细胞。渗透加上离子向胞内的主动转运，导致膨压，使植物细胞由于水而膨胀，并使其细胞壁绷紧。因此，细胞壁好像皮革外套，质膜像橡皮内胆，植物细胞好似足球，它的皮革外套被打足气的橡皮内胆的压力撑得很紧。膨压担负各种功能，它维持植物茎干坚挺和叶子伸展，通过叶面内极微小的“口”——气孔调节气体交换。这些气孔的开启和关闭由周围的保卫细胞来调控（图 12-14），而保卫细胞则通过调节 K^+ 跨质膜移动协调其自身的膨压。

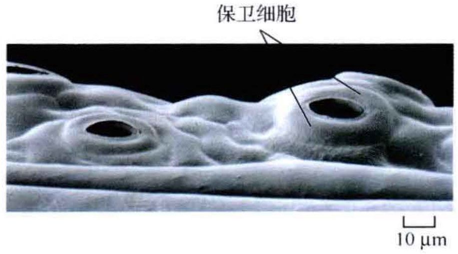


图 12-14　叶子底面的气孔打开。气孔的打开和关闭由它周围的香肠状的保卫细胞控制。（蒙 Kim Findlay 惠许）

一些生活在淡水中的原生动物，如变形虫，把因渗透而不断地进入细胞内的过量水收集在收缩泡内，这些收缩泡定期把其内含物释放到细胞外(图 12-13C)。该细胞首先让收缩泡内的溶液富含溶质，使胞内水渗透入收缩泡，细胞通过主动转运把溶质泵回到胞质溶胶内，回收这些溶质，再把液泡向外排空。

12.2.6 Ca^{2+} 泵使细胞内 Ca^{2+} 保持低浓度

像 Na^+ 一样，胞质溶胶内的 Ca^{2+} 浓度也被保持在低于胞外液体 Ca^{2+} 浓度，但是，在细胞内外它的量都要比 Na^+ 少得多(表 12-1)。然而，Ca^{2+} 的跨膜迁移极为重要，因为 Ca^{2+} 能与细胞内许多其他分子紧密结合，改变它们的活性。例如，经 Ca^{2+} 通道流入胞质溶胶的 Ca^{2+} 常被用作引发细胞内其他事件的信号，像信号分子的分泌和肌细胞的收缩。

胞质溶胶内游离 Ca^{2+} 的本底浓度越低，细胞对胞质溶胶 Ca^{2+} 的增加越敏感。因此，胞质溶胶内通常保持非常低的游离 Ca^{2+} 浓度(约 10^{-4} mol/L)，尽管细胞外的 Ca^{2+} 浓度高得多(1～2 mmol/L)。如此大的浓度差主要借助质膜和内质网膜中的 ATP 驱动的 Ca^{2+} 泵主动地把 Ca^{2+} 泵出胞质溶胶来维持。

像 Na^+-K^+ 泵一样，Ca^{2+} 泵也是一种 ATP 酶，在它的泵循环工作期间，它被磷酸化和去磷酸化(图 12-15)。一般认为，除了不须结合和转运第二个离子就能回到其原来构象以外，它的工作方式与图 12-11 所描绘的 Na^+-K^+ 泵的工作方式差不多相同。这两种 ATP 驱动泵有相似的氨基酸序列和结构，在进化中很可能有共同的起源。

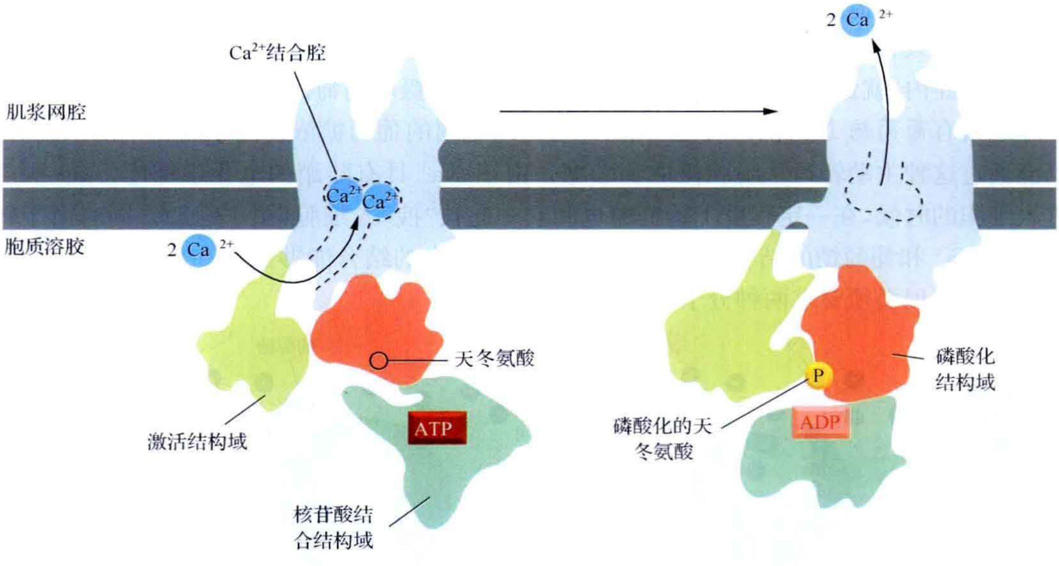


图 12-15 骨骼肌细胞中 Ca^{2+} 泵将 Ca^{2+} 泵回肌浆网。借助于 X 射线结晶学和电镜技术，Ca^{2+} 泵的三维结构已经解出。Ca^{2+} 泵是由四个不同功能的结构域组成的一个单分子蛋白质。当肌细胞受到刺激，Ca^{2+} 从肌浆网——一种特化的内质网——流入细胞质中，导致细胞收缩；为了从收缩状态恢复过来，Ca^{2+} 泵将运送 Ca^{2+} 回到肌浆网。这个蛋白的多肽链有 10 个跨膜 α 螺旋。ATP 结合以及随后在该载体蛋白的天冬氨酸上的磷酸化导致其构象发生变化，使得核苷酸结合结构域和激活结构域相互靠近。这一移动反过来引起跨膜螺旋区域的重排，造成去除 Ca^{2+} 结合位点并释放 Ca^{2+} 进入肌浆网腔。注意，Ca^{2+} 泵所介导的这条 Ca^{2+} 通道能够避免离子与脂双层相互接触。(改编自 C. Toyoshima et al.，*Nature* 405：647-655，2000。蒙 Macmillan Publisher Ltd 惠许)

12.2.7 偶联转运蛋白利用溶质浓度梯度主动摄取营养物

正如由 Na^+-K^+ 泵所产生的 Na^+ 梯度，任何溶质的跨膜梯度都能被用来驱动第二种分子的主

动转运。第一种溶质沿着梯度而下的下坡迁移,为驱动第二种溶质的上坡转运提供能量。这样进行转运的载体蛋白称为**偶联转运蛋白**(见图 12-8),它们可以使一种无机离子的移动与另一种无机离子或是有机分子的移动耦合,或者使一种有机分子的移动与另一种有机分子的移动耦合。如果这个转运蛋白以同一方向跨膜转运两个溶质,则称为同向转运(图 12-16);如果转运蛋白以相反方向转运两种溶质,则称为对向运输。一种载体蛋白如果只运送一种溶质穿过膜(因此它不是偶联的转运蛋白),称为单向转运,前面提到的被动的葡萄糖转运蛋白就是一种单向转运(图 12-6)。

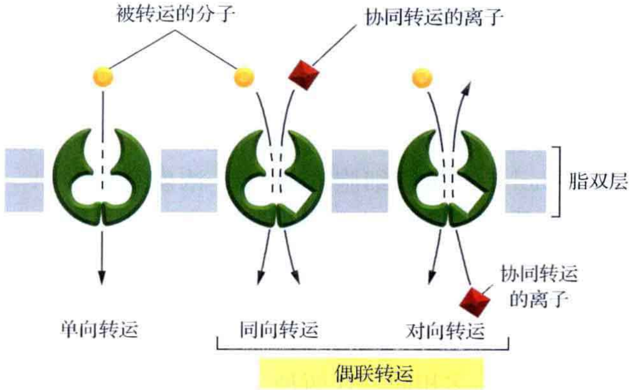


图 12-16 一些载体蛋白转运一种溶质穿过膜(单向转运);另一些能够将一种溶质的上坡转运和第二种溶质的下坡转运耦合。在偶联转运中,一种溶质可以被同一方向(同向转运)或相反方向(对向转运)进行转运(视频 12.3)。单向、同向或对向运输可用于被动和主动转运两者。

同向转运在动物细胞中起特别重要的作用,它利用 Na^+ 顺着其陡峭的电化学梯度而下的向内流动而驱动其他溶质输入细胞。例如,肠上皮细胞通过转运将肠腔的葡萄糖运入肠上皮。假如这些细胞只有如前所述的葡萄糖被动转运蛋白,那么在一次无糖餐后,上皮细胞将把葡萄糖释放到肠腔内,就像在一次含糖丰盛的进餐后,从肠腔摄取葡萄糖那样地自由。但是,好在上皮细胞还具有葡萄糖-Na^+ 同向转运功能,即使当细胞内的葡萄糖浓度高于肠腔中的浓度时,它们仍能通过这种主动转运从肠腔摄取葡萄糖。由于 Na^+ 具有陡峭的电化学梯度,当它顺着梯度进入细胞的时候,在一定程度上葡萄糖也和它一起被“拽”入细胞(图 12-17)。同时由于转运蛋白对于 Na^+ 和葡萄糖的结合是协同的——与其中一个的结合能够加强和另一个的结合——偶联转运的实现必须要求两种分子都存在。

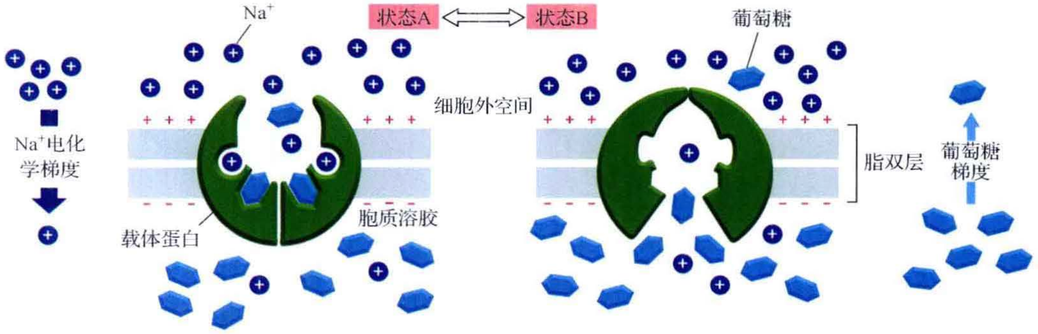


图 12-17 葡萄糖-Na^+ 同向转运蛋白利用 Na^+ 电化学梯度驱动葡萄糖的摄入。葡萄糖能够以主动转运和被动转运两种方式通过上皮细胞膜。如图所示,葡萄糖-Na^+ 同向转运蛋白利用 Na^+ 顺着其电化学梯度而下的向内流动驱动葡萄糖转运。该泵在两种交替状态 A 和 B 之间随机变换。A 状态下,蛋白质向胞外空间开放;B 状态下,则向胞质溶胶开放。尽管在任何一种状态下,Na^+ 和葡萄糖均可与蛋白质结合,但是只有在两者都存在的情况下,它们才有效地结合:Na^+ 的结合,引起蛋白质构象的改变,极大地增加蛋白质对葡萄糖的亲和率,反之亦然。由于胞外空间中的 Na^+ 浓度比胞质溶胶内高很多,葡萄糖更可能与 A 状态的泵结合,因此 Na^+ 和葡萄糖流入细胞(通过 A→B 的转变)通常要比流出细胞(由 B→A 转变)多很多。总的结果是葡萄糖和 Na^+ 净转运入细胞。注意,因为这种结合是协同的,如果缺失两种溶质之一,则另一种溶质将不能和泵结合,也就不能被转运。偶联转运的另一种工作方式在问题 12-3 中讨论。

然而，如果肠上皮细胞只有这种同向转运，则它们决不能释放葡萄糖为身体的其他细胞所利用。因此，这些细胞具有两种葡萄糖载体。在面向肠腔的质膜顶区，具有葡萄糖-Na^+同向转运，这种同向转运主动地摄取葡萄糖，使胞质溶胶内产生高葡萄糖浓度；在质膜基底区和侧区，具有葡萄糖被动单向转运，沿浓度梯度而下释放其他组织所需的葡萄糖(图 12-18)。这两种葡萄糖载体被隔离在质膜上专属于它们各自的区域中，这两个区域被细胞顶区周围由紧密连接形成的扩散屏障隔开，这个屏障防止顶区、基底区和侧区之间膜成分的混合，这在第 11 章中讨论过(图 11-34)。

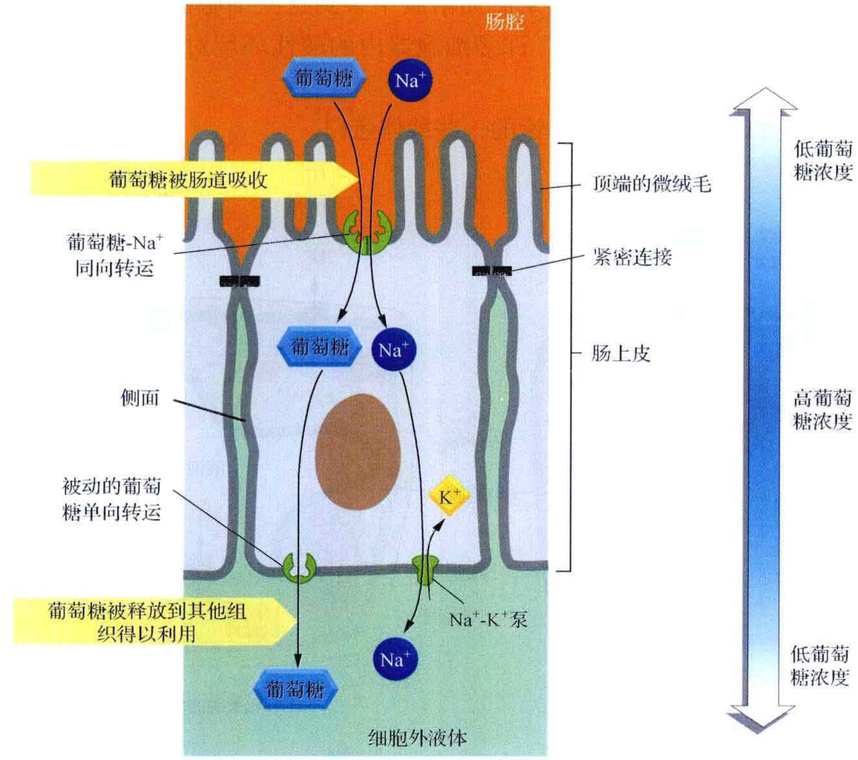


图 12-18 能使肠上皮细胞转运葡萄糖的穿过肠内衬的两种载体类型。顶端表面，由 Na^+ 驱动的葡萄糖同向转运，主动地转运葡萄糖进入细胞；在基底面和侧面，由被动的葡萄糖单向转运使其沿浓度梯度下行而释放到胞外(视频 12.4)。这两种葡萄糖载体在质膜中被紧密连接隔离开(图 11-34；紧密连接将在第 20 章讨论)。为了维持胞质中较低的 Na^+ 浓度，由葡萄糖-Na^+ 同向转运蛋白进入细胞的 Na^+ 将通过 Na^+-K^+ 泵泵出细胞。进食后肠腔中含有大量的 Na^+。

肠内衬上皮中的细胞和许多其他器官(如肾脏)中的细胞，它们的质膜中有类似于由 Na^+ 电化学梯度驱动的各种同向转运，每一种这样的载体蛋白专一地输入一小组相关的糖或氨基酸到细胞内。但是 Na^+ 驱动的对向运输也具有重要的功能，例如，许多动物细胞质膜中的 Na^+-H^+ 交换蛋白利用 Na^+ 下坡内流把 H^+ 泵出细胞，是动物细胞用来调控其胞质 pH 的重要方法之一。

12.2.8 植物、真菌和细菌利用 H^+ 梯度驱动膜转运

植物细胞、真菌(包括酵母)和细菌，在它们的质膜中没有 Na^+-K^+ 泵，它们不是利用 Na^+ 的电化学梯度，而是主要利用 H^+ 的电化学梯度驱动溶质转运到细胞内。质膜 H^+ 泵把 H^+ 泵出细胞，产生梯度，由此形成了胞外的 H^+ 浓度高于胞内的电化学质子梯度。在这个过程中，H^+ 泵也使细胞周围介质呈酸性 pH。细菌细胞摄取许多糖和氨基酸就是由 H^+ 同向转运驱动的，这种

同向转运是利用跨质膜的 H^+ 电化学梯度，与动物细胞使用 Na^+ 电化学梯度的方式很相似。

一些光合细菌的 H^+ 梯度是由像细菌紫膜质这样的光驱动 H^+ 泵的活动产生的(图 11-28)。另一些细菌，由质膜蛋白的工作产生 H^+ 梯度，该质膜蛋白执行和完成细胞呼吸的最后阶段，促使 ATP 合成，如第 14 章讨论的。但是，植物、真菌和许多其他细菌借助它们质膜中的 ATP 酶建立 H^+ 梯度，它们质膜中的 ATP 酶用水解 ATP 的能量把 H^+ 泵出细胞，类似于如我们前面讨论的哺乳动物细胞内的 Na^+-K^+ 泵和 Ca^{2+} 泵。

在一些细胞器如动物细胞的溶酶体和植物与细菌细胞的中央液泡的膜中，发现有其他类型的 H^+ ATP 酶。它们的功能是把 H^+ 从胞质溶胶中泵到这些细胞器内，用于维持胞质溶胶的 pH 为中性而细胞器内的 pH 为酸性。许多细胞器内的酸性环境对于它们的功能是至关重要的，我们将在第 15 章中讨论。

图 12-19 和表 12-2 显示本章中讨论的一些载体蛋白。

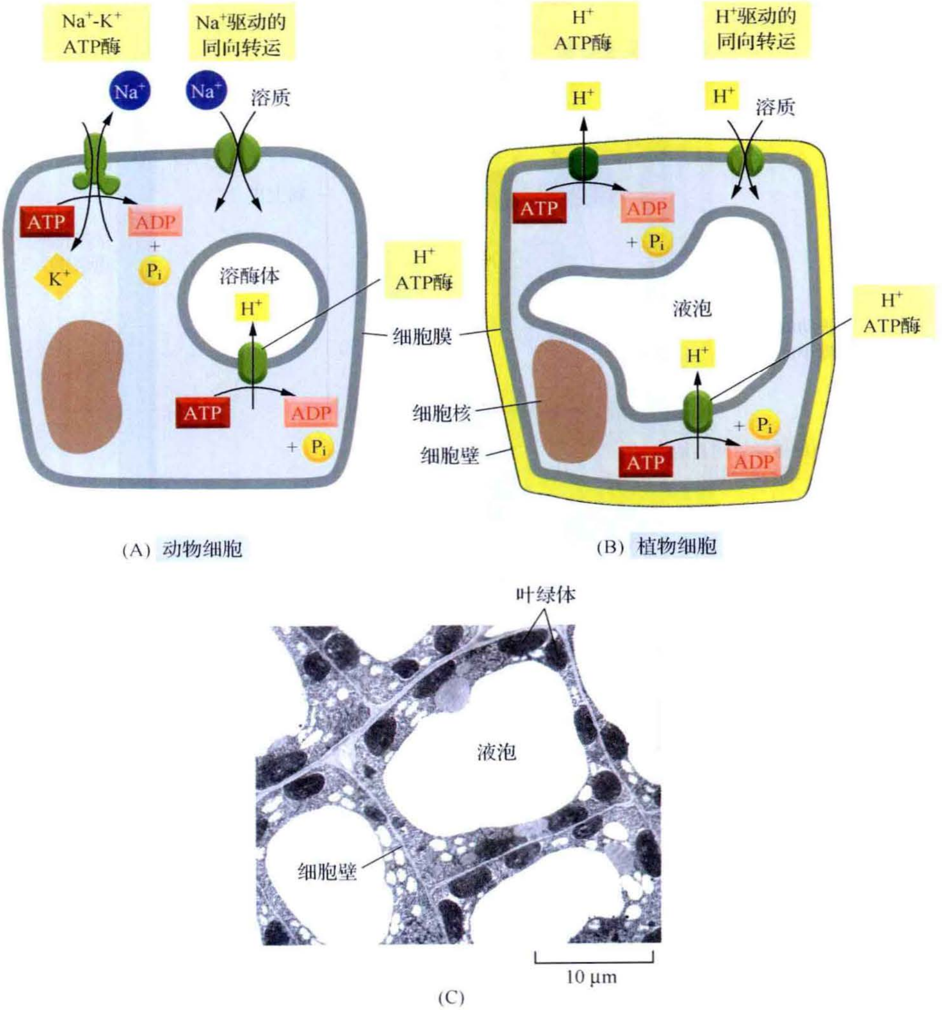


图 12-19　动植物细胞内载体介导溶质转运的一些异同点。由 Na^+-K^+ 泵（Na^+-K^+ ATP 酶）产生的 Na^+ 电化学梯度，常被用于驱动主动转运溶质穿过动物细胞质膜(A)；通常由 H^+ ATP 酶产生的 H^+ 电化学梯度，常被植物细胞(B)以及细菌和真菌(酵母)用于这个目的。动物细胞内的溶酶体，植物和真菌细胞内的液泡，它们的膜含有一种 H^+ ATP 酶，可泵入 H^+，有助于维持这些细胞器的酸性内环境。电子显微镜照片显示了烟草嫩叶细胞内的液泡(C)。(C 蒙 J Burgess 惠许)

表 12-2 载体蛋白的一些例子

载体蛋白	部位	能源	功能
葡萄糖载体	多数动物细胞的质膜	无	被动输入葡萄糖
Na^+驱动的葡萄糖泵	肾和肠细胞顶部质膜	Na^+梯度	主动输入葡萄糖
Na^+-H^+交换器	动物细胞的质膜	Na^+梯度	主动输出 Na^+，调节 pH
Na^+-K^+泵（Na^+-K^+ ATP 酶）	多数动物细胞的质膜	ATP 水解	主动输出 Na^+，输入 K^+
Ca^{2+}泵（Ca^{2+} ATP 酶）	真核细胞的质膜	ATP 水解	主动输出 Ca^{2+}
H^+泵（H^+ ATP 酶）	植物细胞，真菌和一些细胞的质膜	ATP 水解	主动输出 H^+
H^+泵（H^+ ATP 酶）	动物细胞溶酶体膜，植物和真菌细胞液泡膜	ATP 水解	主动输出胞质内 H^+ 进入液泡
细菌紫膜质	一些细菌的质膜	光	主动输出 H^+ 到胞外

现在我们回来讨论离子通道的转运，看看离子的流动如何导致膜电位的产生。

12.3 离子通道和膜电位

原则上，允许小的水溶性分子从膜的一边穿越到另一边的最简单方式是产生能让分子通过的亲水通道。通道蛋白在细胞膜中履行这一功能，它们形成让小的水溶性分子被动进出细胞或细胞器的跨膜小孔。

少数通道蛋白形成比较大的孔：例如，在两个相邻细胞之间形成间隙连接的蛋白质（图 21-28），在线粒体和一些细菌的外膜中形成通道的孔蛋白（图 11-25）。但是，如果这种大而随意的通道直接把细胞的胞质溶胶与胞外空间相连，就会导致灾难性的泄漏。因此，动植物细胞质膜中的大多数通道蛋白带有狭窄的和有高度选择性的孔。一种称为水通道的特殊通道能够运输水分子通过细胞膜。这种蛋白的结构允许不带电荷的水分子快速通过，而阻止包括 H^+ 在内的其他离子通过。但是细胞绝大多数通道仅与无机离子的转运有关，这些无机离子主要有 Na^+、K^+、Cl^- 和 Ca^{2+}，接下去我们将讨论这些**离子通道**。

12.3.1 离子通道是离子选择性的和门控的

离子通道和简单水孔可根据两个重要特性来区分：第一，离子通道显示离子选择性，允许一些无机离子通过而不允许其他无机离子通过。离子的选择性依赖于离子通道的直径和形状，以及依赖于在通道内衬里带电氨基酸的分布：通道狭窄到刚好使离子能挤过去，以致只有大小和电荷合适的离子才能通过（图 12-20）。例如，大的离子将不能通过狭窄的通道；内衬具有负电荷的通道将阻止阴离子进入，因为相同电荷之间静电同性相斥。以这种方式，通道已经进化成只对一种类型的离子如 Na^+ 或 Cl^- 具选择性（视频 12.5）。在水溶液中每个离子都被一薄层水分子外壳包围，一般认为离子为了通过通道，不得不摆脱许多与它们联系在一起的水分子，单列通过通道的最狭窄部分。这时离子和选择性通道内衬氨基酸上的原子发生短暂但是关键的结合（图 12-20），这些定位精确的原子使得通道对离子的大小进行精密的区分。离子转运中的这一步限制了经过通道的最大速率，因此当离子浓度增加时，离子通过一个通道的离子流率开始时成比例增加，随后很快稳定在最高流率水平上（饱和）。

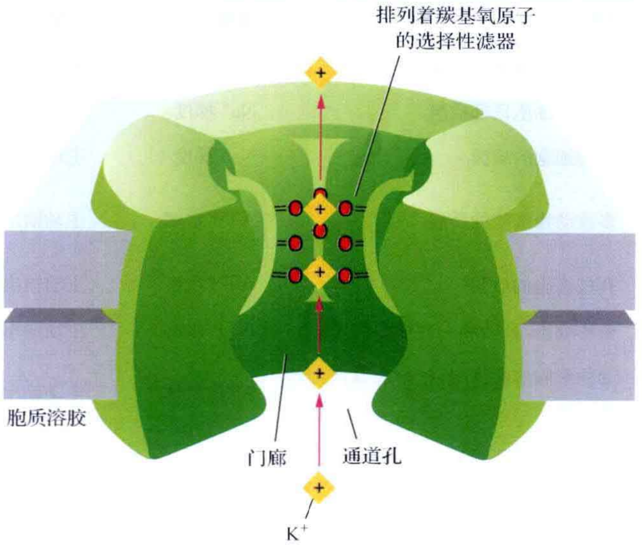


图 12-20　K^+通道具有选择性滤器能够决定被何种离子转运通过细胞膜。如图所示的是细菌 K^+ 通道的一部分。为了显示该通道的内衬结构，其 4 个蛋白亚基中有一个没有在图中显示。从胞质方向看，通道孔打开形成一个位于细胞膜中央的门廊。门廊内的 K^+ 仍旧被与它结合在一起的水分子（未画出）包封着。联系着门廊和细胞外部分的是狭窄的选择性滤器，上面排列着羰基氧原子（红色），带有负电荷，能够和 K^+ 发生短时间的结合，从而使得 K^+ 摆脱和它们在一起的水分子。（改编自 D. A. Doyle et al.，*Science* 280：69-77，1998. 蒙 AAAS 惠许）

离子通道与简单水孔之间的第二个重要区别是离子通道的不连续开放。假如一点也不控制流量，假如细胞膜的成千上万个离子通道一直都开放着，那么离子转运对细胞就毫无价值。所以相反的，离子通道的开放时间短暂，之后马上关闭（图 12-21）。如我们后面论述的，大多数离子通道是门控的：它们能借助构象的变化在关闭和开放状态之间转变。

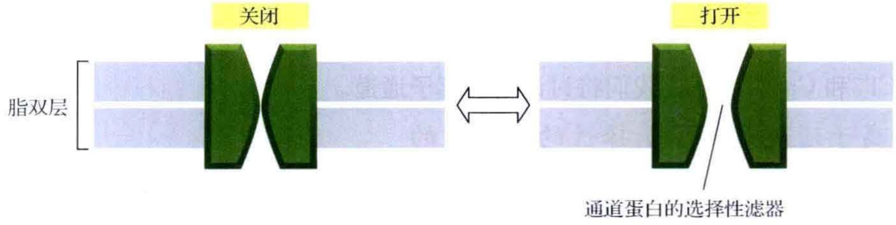


图 12-21　离子通道在开放和关闭构象之间切换。如图所示，通道只有在开放构象的情况下能够形成跨膜亲水孔。极性基团排列在孔壁，而疏水性氨基酸支链和脂双层结合（图中没有显示）。这个通道孔在选择性滤器处狭窄到刚好是原子的大小，从而决定了通道蛋白的离子选择性（图 12-20）。

由于开放离子通道和运输离子的时候不需要发生通道结构上的变化，因此与载体蛋白相比，离子通道具有一个很大的优点，这就是它们极大的转运速度。100 万个以上的离子能在 1 s 内通过一个通道，这个速度比已知的任何载体蛋白最快的转运速度还要高 1000 倍。另外，通道不必把离子的流动与能源偶联起来进行主动转运。大多数离子通道的功能就是简单地让膜对经过选择的无机离子（主要是 Na^+、K^+、Ca^{2+} 和 Cl^-）短暂地通透，当通道门打开时，允许这些离子迅速地扩散，降低它们的跨膜电化学梯度。

由于泵和其他载体蛋白的主动转运，膜两边的大多数离子浓度很不平衡。因而当通道打开

时，离子冲过通道，离子的急流相当于或是输入细胞（当离子内流时）或是输出细胞（当离子外流时）的电荷脉冲。离子的流动改变跨膜电压——膜电位，膜电位的变化改变所有其他离子跨膜移动的电化学驱动力，也迫使对膜电位变化特别敏感的其他离子通道在 1 ms 左右的时间内开放和关闭。结果使电活动的短暂闪变能从细胞膜的一个区域迅速地传播到另一个区域，即传递电信号，我们将在神经细胞章节中讨论。这种类型的电信号并不局限于动物细胞，在原生动物和植物中也发生，例如，食肉植物捕蝇草用电信号感知和捕捉昆虫（图 12-22）。

图 12-22 捕虫草利用电信号捕食。当一个昆虫在它们上面移动时，这些叶片在半秒钟之内急速关闭。每片叶子中央三根触毛中的任意两根连续遭到碰触，就会触发这一反应。这一机制启动离子通道开放并由此引发电信号，以一种尚不清楚的机制导致膨压迅速变化而关闭叶片。（蒙 J. S. Sira，Garden Picture Library 惠许）

无论是植物细胞、动物细胞，还是原生动物，膜电位是细胞内所有电活动的基础。不过，在我们讨论膜电位如何产生之前，让我们先考虑如何测定离子通道的活性。

12.3.2 离子通道在开放和关闭状态之间随机进行快速切换

电流的测定是用于研究活细胞内离子迁移和离子通道的主要方法。令人啧啧称奇的是，电记录技术现在已被改进到有可能检测通过单个通道分子的电流。进行这项检测的方法称为**膜片钳记录**，它直接提供了一幅各单个离子通道如何转运的画面。

在膜片钳记录中，一根很精细的玻璃管作为*微电极*，与细胞表面细胞膜上的一个很小的区域进行电接触（图 12-23）。膜片钳记录使得记录各种类型细胞内的离子通道成为可能——不仅可用于以电活动著称的大神经细胞，而且可用于如酵母那样的因它们电活动太小而无法用其他方法检测的细胞。借助于膜片任何一边介质中离子浓度的变化，膜片钳技术能够测出哪一种离子将通过这膜片中的通道。应用适当的电流，穿越膜片的电压即膜电位也能被设定和钳住在任何一个选定的电压值（由此命名“膜片钳”），这种能够让膜处于不同电压状态下的功能使我们有可能去观察膜电位的变化如何影响膜通道的开放和关闭。

在一块足够小的膜片上，有时只存在单个离子通道。现代的电子仪器灵敏到足以显示通过单通道的离子流，检测瞬间电流（10^{-12} A）。这些电流以惊人的方式特征性地表现出来：即使当条件维持恒定时，电流会突然开放和突然再次关闭，恰如一个开关正随机地被轻轻拉推着（图 12-24）。这种特性暗示通道具有可动部分并在开放与关闭的构象之间来回变动着（图 12-21），即使在条件恒定时仍能看到这种特性。这很可能表明，通道蛋白受其周围分子的随机热运动碰撞而从一种构象改变成另一种构象。这是能跟踪单个蛋白质分子构象改变的极少数例子之一。由此设想这个不断遭受猛烈振动的急动机构的情况，无疑也适合于具有可动部分的其他蛋白质。

即使当膜两边的条件保持恒定时，如果离子通道仍然随机地在开放和关闭构象之间急速切换，那么细胞内外的条件如何能调控这些离子通道的状态？回答是当适宜条件改变时，随机行为继续，但大大地改变了概率：例如，假设改变的条件趋向于通道的开放，那么该通道将会有较多的时间处于开放构象，但不会保持连续地开放（图 12-24）。离子通道在开放时，是完全开放的；关闭时，则完全关闭。

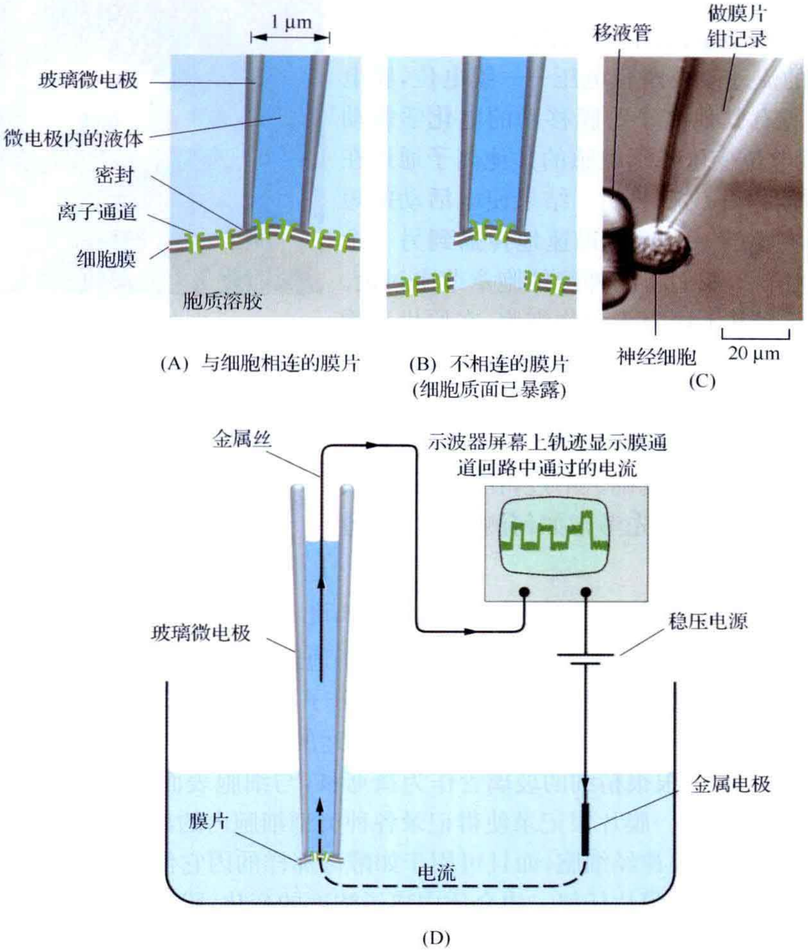


图 12-23 膜片钳记录技术用于检测离子通道活性。首先，微电极是通过加热玻璃管并拉制成直径不超过几微米的极细针尖，然后用电导水溶液充满这玻璃管而制成的。微电极尖端紧紧地贴在细胞表面，用温和的吸力在细胞膜与微电极口的接触处形成紧密的电封闭(A)。因为微电极的开口与膜之间非常紧密的密封，所以电流只能通过覆盖电极尖端小片膜中的通道出入微电极。(B)为了暴露膜的胞质溶胶面，可以把微电极抓住的膜片温和地与细胞分开，分离膜片的优点是容易改变膜任何一边的溶液成分，测试各种溶质对通道行为的效应。(C)显微照片显示用吸管吸住的一个取自眼的神经细胞(左侧为吸管的尖端)，同时微电极(右上方)正被用作膜片钳记录。(D)用于膜片钳记录的电路。在微电极开口的另一端插入一根金属丝。通过覆盖在微电极尖端小块膜片中的离子通道进入微电极的电流，经过金属丝，通过测定仪，再返回到放置细胞或膜片的介质槽内。(C 引自 T. D. Lamb, H. R. Matthews, and V. Torre, *J. Physiol.* 372:315-349, 1986)

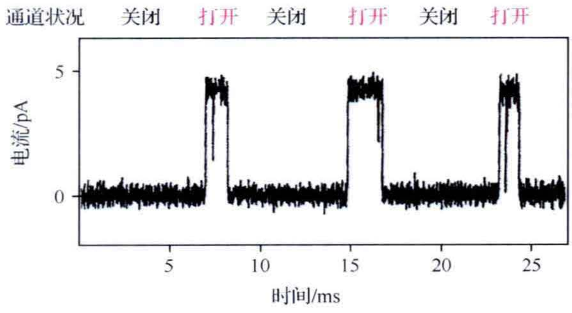


图 12-24 用膜片钳技术记录到的单离子通道电流。记录期间，要保持跨越分离膜片的电压(膜电位)恒定。本例中的膜来自肌细胞并含有一个通道蛋白，对神经递质乙酰胆碱敏感。当乙酰胆碱结合在通道的外表面的时候，离子通道开放，允许阳离子通过，如本图所示的情况。虽然乙酰胆碱结合在通道上，导致图中通道 3 次突然开放，但是这个通道并不会一直保持开放状态，而是在开放和关闭状态之间切换，如图所示，每次通道开放都有一个短暂快速的电流回落。如果乙酰胆碱不与通道结合，则通道难以开放。(蒙 David Colquhoum 惠许)

12.3.3 离子通道的开放和关闭受外界刺激影响

至今，已发现 100 多种离子通道，新的种类仍在不断被发现。例如，线虫的基因能够编码 68 种不同的钾离子通道。它们彼此间的差异主要关系到离子选择性——允许通过的离子种类和门控性——影响其开放和关闭的条件。对于**电压门控通道**，其开放的概率由膜电位控制（图 12-25A）。对于**配体门控通道**，它的开放由一些分子（配体）结合到通道蛋白上进行控制（图 12-25B，C）。至于**应力激活通道**，其开放受控于施加至通道的机械力（图 12-25D），耳内听觉毛细胞是依赖于这类通道的一个重要例子。声音振动打开应力激活通道，引起离子流进毛细胞从而产生电信号，这种电信号从毛细胞传递到听觉神经，再由听觉神经把信号传递给大脑（图 12-26）。

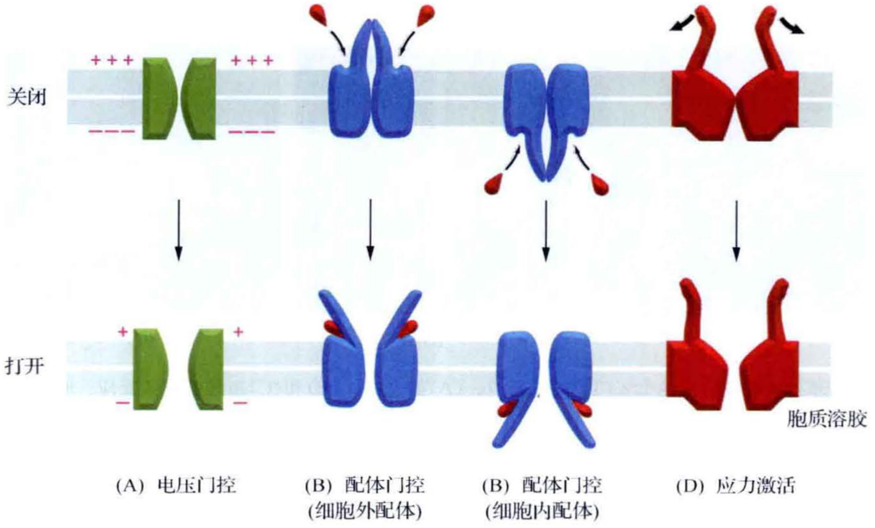


图 12-25 门控离子通道可以响应不同类型的刺激。取决于离子通道的种类，通道闸门的开放响应于跨膜电压差的改变（A），化学配体在细胞外的通道结合（B），化学配体在细胞内与通道结合（C）或是机械刺激（D）。

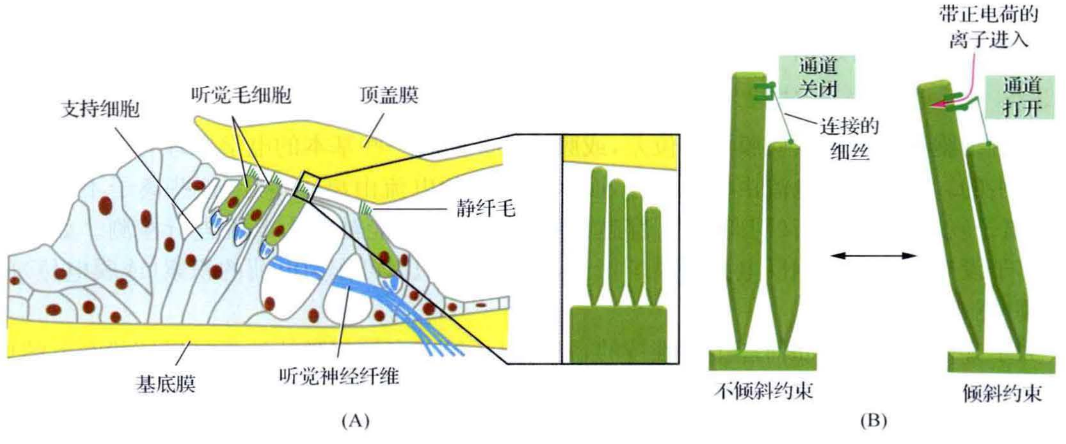


图 12-26 应力门控的离子通道使我们能够听到声音。（A）经过柯蒂氏器的切面，通过内耳的耳蜗轴。每个毛细胞在它上端表面有一簇叫作静纤毛的突起，这些毛细胞嵌入支持细胞层内，这一支持细胞层夹在下面基底膜与上面覆膜之间（这些不是脂双层膜，而是细胞外基质薄层）。（B）声音振动引起基底膜上下振动，从而使静纤毛倾斜。每个毛细胞上交错排列的每根静纤毛，借助于很细的丝与邻近较短的静纤毛相连。由于静纤毛的倾斜拉动丝，因而拉开静纤毛膜上的应力门控离子通道，使周围溶液中的带正电荷离子进入细胞（视频 12.6）。离子的输入激活毛细胞，刺激位于下面的把听觉信号传递给大脑的神经细胞末端。毛细胞机制异常敏感：打开一个离子通道所需的力约为 2×10^{-13} N，已经测出我们能听到的最轻微的声音只需拉动细丝平均约 0.04 nm，这比氢离子的直径还短。视频 12.7 示了这些结构的柔韧性。

12.3.4 电压门控离子通道应答膜电位

电压门控离子通道在神经细胞传播电信号中起主要作用，但它们也存在于其他许多细胞中，包括肌细胞、卵细胞、原生动物，甚至植物细胞。在植物细胞中它们能使电信号从植物的这部分传播到另一部分，如含羞草的闭叶反应(图 12-27)。电压门控离子通道有专门的带电荷的蛋白质结构域，称为电压传感器，它对膜电位的变化极其敏感：超过阈值的一点点变化也能使这些电压传感器受到足够的电力影响，促使通道从其关闭构象转变为开放构象；反之亦然。膜电位的变化并不影响通道开放的大小，而是改变通道处于开放构象的概率。因此在一大块含有许多通道蛋白分子的膜片中，可以发现：当膜被保持在某一电位时，在任何瞬间平均有 10%的通道是开放的；而当膜保持在另一个膜电位时，90%的通道是开放的。

(A)　　(B)　　(C)

图 12-27　含羞草的关叶反应中的电压门控离子通道。(A)静息叶。(B)和(C)碰触的连锁反应。叶子被碰触后的几秒钟，这些小叶下垂。这一反应包括电压门控通道的打开，产生电脉冲。当脉冲波到达每片小叶底部特化的铰链细胞时，这些细胞迅速失水，引起小叶突然下垂，进一步使得叶柄下垂。(蒙 G. I. Bernard, Oxford Scientific Films 惠许)

要了解活细胞的电压门控离子通道的功能，我们必须考虑是什么控制了膜电位。简单的回答是这由离子通道本身控制。这些通道的开放和关闭使膜电位发生变化。这个从离子通道→膜电位→离子通道控制环路对细胞中所有电信号来说是基本的。知道了膜电位如何调控离子通道后，现在我们要讨论离子通道如何控制膜电位。在本章最后部分，我们考虑这个控制环路如何在神经细胞中传递信号。

12.3.5 膜电位由膜对特定离子的通透性来调控

所有细胞都有跨越其质膜的电位差，或**膜电位**。回顾一些基本的电学原理有助于了解它是怎样产生的。金属中的电流由电子传导，而水溶液中的电流由离子传导，这些离子不是带正电荷(阳离子)就是带负电荷(阴离子)。穿越细胞膜的离子流能被作为电流进行检测。如果所积累的离子没有正好被带相反电荷的离子抵消，则离子的积累可作为电荷的积累(或膜电位)而加以探测(图 12-28)。

为了弄懂膜电位是如何产生和维持的，先要想一想在未被刺激的处于"静息"状态下的典型动物细胞中离子进出的情况。限制在细胞内有机分子上的负电荷大多由 K^+ 抵消，K^+ 是细胞内主要的阳离子。细胞内的高 K^+ 浓度部分由 Na^+-K^+ 泵产生，Na^+-K^+ 泵主动地把 K^+ 泵进细胞，这导致很大的跨质膜 K^+ 浓度差，使细胞内的 K^+ 浓度比胞外高很多。然而，质膜也含有称为 K^+ 泄漏通道的一套 K^+ 通道，不管细胞内外是什么条件，这些通道在开放和关闭状态之间随机闪变，当它们开放时允许 K^+ 自由地流动。它们是静息细胞质膜内开放的主要离子通道，因此静息质膜对 K^+ 的通透比其他离子高得多。

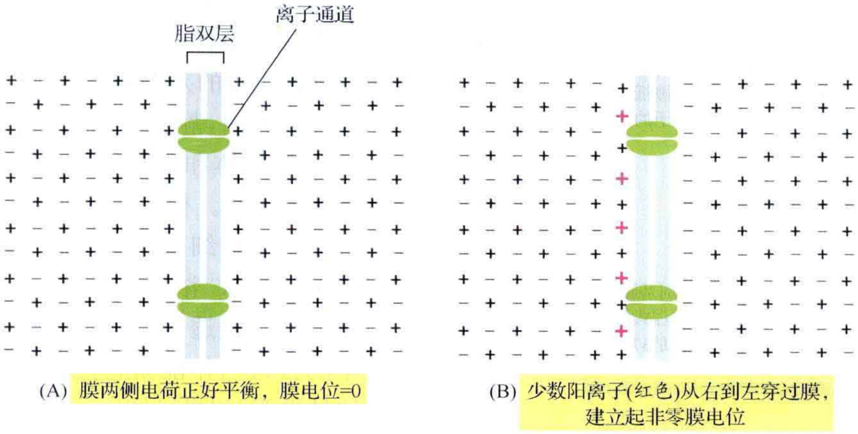


图 12-28 脂双层任何一边的离子分布都可以产生膜电位。膜电位是由接近膜的一薄层(小于 1 nm)离子产生，这列离子通过对膜另一边带相反电荷的离子的电吸引而处在应有的位置上。(A)当膜两边的电压正好平衡时，膜电位为零。(B)当某种类型的离子通过细胞膜，会使得膜两边产生电荷差，从而产生膜电位。需要穿过膜以产生膜电位的离子只占所有离子的极少数部分(6000 个 K^+ 穿过 1 μm^2 细胞膜，足以改变 100 mV 左右的膜电位，而在 1 μm^3 体积的细胞内，K^+ 的数目较此大 7 万倍)。

因此 K^+ 有顺着它陡峭的浓度梯度流向细胞外的趋向。但是，任何正电荷向胞外的转运总会在胞内留下未抵消的负电荷，由此产生电场或膜电位，这膜电位将对抗 K^+ 进一步向胞外迁移，约在 1 ms 之内达到平衡。在此平衡状况下，膜电位正好大到足以抗衡 K^+ 顺其浓度梯度外流的倾向，尽管细胞内的 K^+ 浓度仍比胞外高很多，但 K^+ 的电化学梯度等于零(图 12-29)。

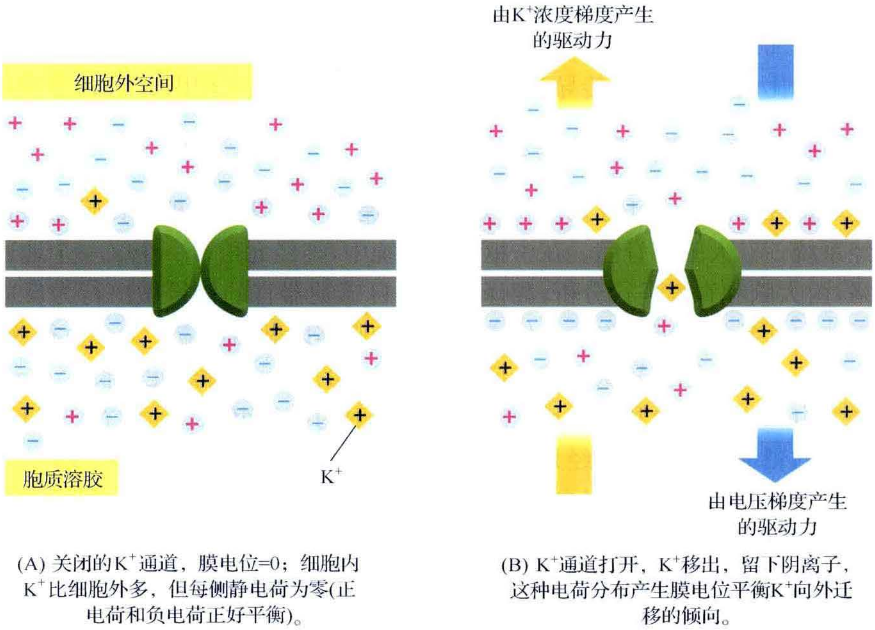


图 12-29 K^+ 渗漏通道在产生跨质膜电位过程中的作用。(A)假设 K^+ 渗漏通道关闭，膜电位为零。(B)一旦通道打开，K^+ 趋向于沿着其浓度梯度向胞外移动。假定膜不含有让其他离子通过的通道，此时 K^+ 会通过膜，但阴离子无法随 K^+ 通过。结果膜外有过多的正电荷，膜内有过多的负电荷，导致膜电位升高，并趋向驱动 K^+ 返回细胞内。在平衡条件下，K^+ 浓度梯度正好与膜电位的作用平衡，并且没有 K^+ 的净移动。

驱动离子跨膜的力由两种组分组成，其一为膜电位，其二为浓度梯度。在平衡时，这两种力被抵消，并满足于能斯特方程式所给予的一个简单数学关系。

能斯特方程：

$$V=62\ \log_{10}(C_0/C_i)$$

V是膜电位(mV)，C_0和C_i分别是膜外和膜内的离子浓度。该方程式假定离子为一价正电荷，温度是37℃。

图 12-30　能斯特方程用于计算静息膜电位。

静息膜电位是在阴阳离子穿过质膜的流动正好达到精确平衡的稳定状态条件下的膜电位，因而，在跨膜电荷积累方面没有进一步的差别，膜电位即为测量到的跨膜电位差。动物细胞内，静息膜电位变化为－200～－20 mV，这取决于生物体和细胞类型。膜电位表现为负值是因为胞内为负电荷。相对于细胞外，细胞内的负电荷略超过正电荷。动物细胞内静息膜电位的实际值主要反映了穿越质膜的 K^+ 浓度梯度，因为在静息状态下，这种膜主要是对 K^+ 通透，而 K^+ 是细胞内的主要阳离子。一个简单的公式叫作**能斯特方程式**(图 12-30)，它定量地表示这种平衡，如果已知胞内外离子浓度的比值，就有可能计算理论上的静息膜电位。

现在，假设在静息质膜中对一些其他离子——如 Na^+——的通道突然开放，由于 Na^+ 在胞外浓度比胞内高，Na^+ 将通过这些通道向胞内迁移，膜电位负值将变小，甚至可能把信号变成正的(那样就是相对于胞外，细胞内是正的)。膜电位将变换为一个新值，该新值是对应 K^+ 平衡的负值和对应 Na^+ 平衡的正值之间的一个中间值。膜对特殊离子通透性的任何改变，也就是不同类型的离子通道开放的数目的变化，会引起膜电位的改变。因此，膜电位既取决于离子通道的状态，又取决于胞质溶胶与胞外介质中离子的浓度。与大范围的离子浓度变化相比，质膜的电过程发生得非常迅速，只有很短的时间——几毫秒对几秒或几分钟的比较，因此在控制膜电位方面最重要的是离子通道。

为了解产生电信号的膜电位和离子通道之间是怎样相互作用的，现在我们从分析研究离子和离子通道的行为回到分析研究整个细胞的行为上来。我们取神经细胞作为主要例子，因为与其他类型的细胞相比，它以电信号传导为专业，并以最精致的方式运用离子通道。

12.4　神经细胞的离子通道和信号转导

神经细胞即**神经元**的基本任务是接收、处理和传递信号。神经元把来自感觉器官的信号传递到中枢神经系统——大脑和脊髓。在中枢神经系统中，神经元信号一个又一个地通过极其复杂的神经网络，由大脑和脊髓进行分析、翻译并对来自感觉器官的信号做出行为反应。神经元从中枢神经系统向外延伸出突触将信号传递到肌肉和腺体以做出反应。为了执行这些功能，神经元往往极度伸长，例如，把信号从脊髓传递到足部肌肉的人运动神经元可长达 1 m。

每个神经元由胞体(含核)和许多长而细的向外放射的突起组成。通常有一根长**轴突**，把信号从胞体向远处的靶细胞转导。神经元还有几根较短的分枝树突，它们像天线一样，从胞体向外延伸，提供扩大的表面积以接收来自其他神经元轴突的信号(图 12-31)。轴突通常在它的远端分成许多分枝，每根分枝以神经末梢为**终端**，因此，神经元的信息能同时被传送到许多靶细胞——其他的神经元或肌肉或腺体细胞。同样，树突的分枝也能延伸，在某些情况下，一个神经元足以接收多至 10 万个输入信号。

不管神经元携带的信号其含义是什么——无论它是来自眼的视觉信息，还是让肌肉运动的指令，或是大脑内信号分析中的一步——信号的形式总是相同的：它由跨越神经元质膜的电位变化组成。

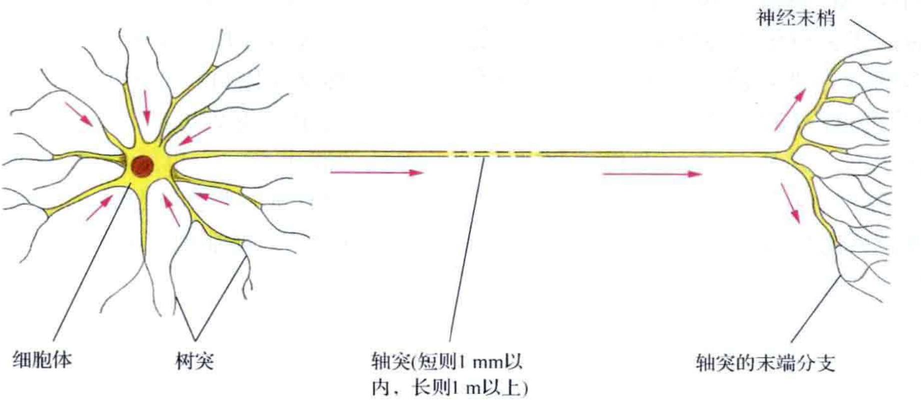


图 12-31　一个典型的神经元由一个胞体，单根轴突以及许多根树突组成。单根轴突把信号从胞体传导出去，而多个轴突接收来自其他神经元轴突的信号。红箭头表示传递信号的方向。

12.4.1　动作电位为迅速的长距离通讯提供了条件

神经元受传送到其表面某一确定位置的信号——一般来自另一个神经元的信号——的刺激，这一信号引起该位置膜电位的改变。然而为了进一步传递信号，膜电位的变化必须从这一点——通常是在树突或胞体上——传到轴突末梢，由它再把信号传递到通路中的下一个细胞。膜电位的局部变化是被动地沿着轴突或树突传播到质膜的邻近区域，随着与信号源距离的增加会迅速减弱。短距离时，这种变弱并不重要，但是对于长距离通讯，这样的被动传播是不合适的。电话信号可以以同样的方法通过电线在小城镇内短距离传递而不用放大，但对于通过海底电缆的越洋传送，信号强度必须每隔一段距离给予增强。

神经元应用活性信号机制解决这个问题：足够强的局部电刺激引发质膜的电活性暴发，并且沿着轴突膜迅速传播，在全程中不断自动更新而得以维持，这种电兴奋的传播波称为**动作电位**，或叫神经冲动，它能携带信息，信号不减弱，以高达 100 m/s 的速度从一个神经元的末端传向其他神经元。

确定电信号沿神经轴突传播机制的所有早期研究是在枪乌贼(图 12-32)的巨大轴突上进行的，它的轴突直径如此之大，以致可以把一根电极直接插入其内记录它的电活动(见我们如何得知)。从这些研究中推论，我们现在讨论的动作电位是神经细胞膜中电压门控离子通道特性的直接结果(图 12-25A)。

图 12-32　枪乌贼的神经系统使其能够对来自周围环境的威胁做出快速反应。组成这一逃逸系统的神经细胞，具有很粗的“巨轴突”，远在膜片钳技术记录到小细胞的单离子通道以前，科学家们在枪乌贼的巨轴突中就记录到有动作电位，并推论细胞膜中离子通道的存在。(蒙 Howard Hall & Oxford Scientific Films 惠许)

12.4.2　动作电位通常由电压门控 Na^+ 通道介导

神经元的动作电位，一般由质膜的突然局部去极化引发，即由膜电位变化至一个负性更小的值(更加向 0 值靠近)引发。我们以后讨论信号分子——由另一个神经元释放出来的神经递质如何作用导致这种去极化的。一个刺激引起一个足够强的去极化并迅速超越某个阈值，则这个刺激会引

起电压门控 Na^+ 通道在该位置暂时开放，使少量 Na^+ 顺其电化学梯度进入细胞。正电荷的内流使膜进一步去极化（它使膜电位负值朝正的方向变化），从而打开更多的电压门控 Na^+ 通道，允许更多的 Na^+ 进入，然后引起进一步去极化。这一过程继续以自身放大的形式持续 1 ms 左右，直至膜的这个局部区域的膜电位从约 −60 mV 的静息值转变到大约 +40 mV（图 12-33）。这很接近于 Na^+ 跨膜迁移的电化学驱动力等于零处的膜电位——也就是说，在此膜电位与 Na^+ 浓度梯度的效应大小相等而方向相反，从而使 Na^+ 没有进一步出入细胞的趋向。此时，假如通道继续无限期地以此相同的方式应答这种改变的膜电位，则细胞所有的电压门控 Na^+ 通道会统统永久地处于打开状态。

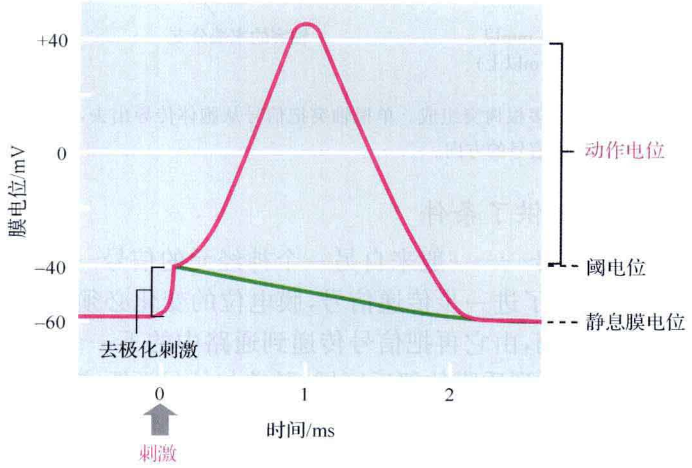


图 12-33　膜电位的快速变化导致动作电位产生。这个神经元的静息膜电位是 −60 mV。当以约 20 mV 刺激质膜去极化，使膜电位为 −40 mV 时，就激发了动作电位。−40 mV 是引起该细胞产生动作电位的阈值。一旦动作电位被激发，膜迅速地进一步去极化：膜电位（红色曲线）变动过零，并在动作电位结束返回静息负电位之前到达 +40 mV。绿色曲线表示如果质膜不存在电压门控通道，在初始去极化刺激以后，膜电位如何简单地衰减回到静息值。

Na^+ 通道具有自动失活机制，所以细胞能摆脱这种灾难。自动失活机制引起它们迅速地（在 1 ms 左右的时间内）处于特殊的失活构象，而处在失活构象的通道不能再打开。即使膜仍被去极化，Na^+ 通道仍将保持在这失活状态，直至膜电位回复到它原来的负值以后几毫秒。图 12-34 显示电压门控 Na^+ 通道的这三种不同状态——关闭、开放和失活的图解说明。图 12-35 显示它们如何使动作电位上升和下降的。

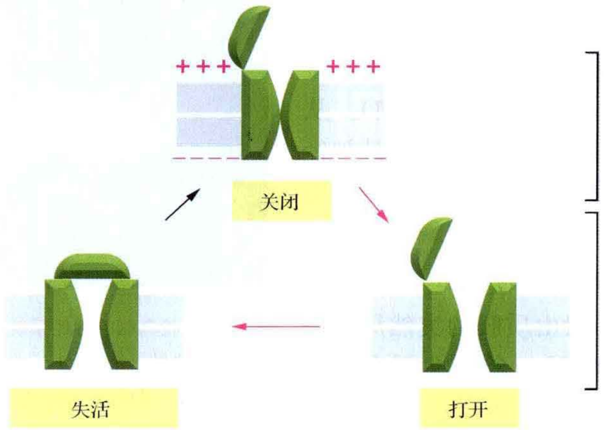


图 12-34　电压门控 Na^+ 通道能采用至少三种构象。该通道能从一种构象急速转变为另一种构象，取决于膜电位。当膜处在静息状态（高度极化）下，关闭的构象最稳定。然而，当膜去极化时，开放构象较为稳定，所以通道开放的可能性高。但是，在膜去极化时，非活化构象更为稳定，所以一次短暂的开放构象时期过后，通道转变成失活状态并且不能开放。红色箭头表示突然去极化以后的结果，黑色箭头表示膜再去极化后返回到原构象。

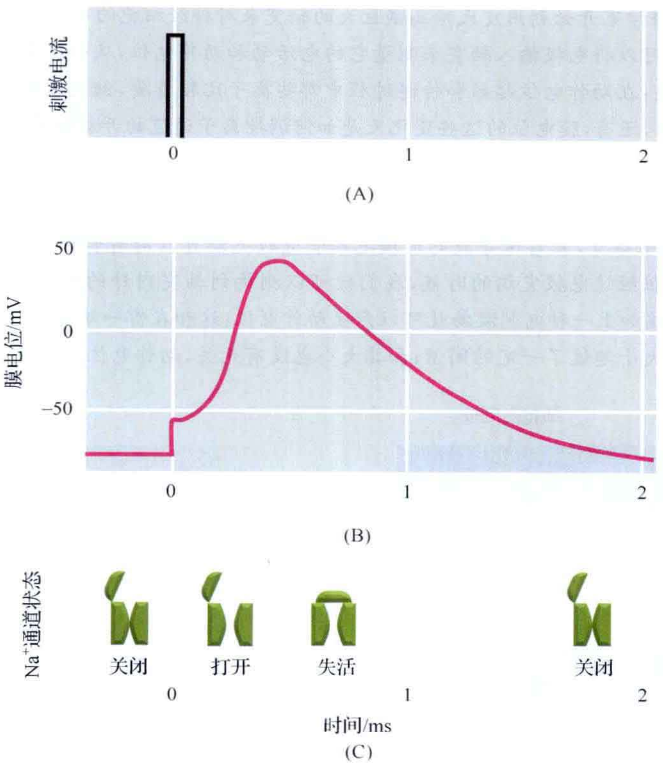


图 12-35　离子流表征动作电位的升高和降低。在这个例子中，一个短暂的电流脉冲激发动作电位(A)，引起膜的部分去极化，如膜电位对时间的曲线所示(B)。(B)显示电压门控 Na^+ 通道的开放和随后的失活引起动作电位过程(红色曲线)，(C)表明电压门控通道的特点。即使重新刺激，膜也不能产生第二个动作电位，直到 Na^+ 通道从失活状态回到关闭状态(图 12-34)，在此以前膜对抗刺激或无刺激反应。

打开电压门控 K^+ 通道也有助于膜恢复到其静息值，这些通道也应答膜去极化而开放，但不像 Na^+ 通道那样迅速，然后只要膜保持去极化，它们就保持在开放的状态。因此当动作电位抵达其峰值时，K^+(带正电荷)开始通过这些 K^+ 通道顺着它们的电化学梯度下行向细胞外流动，而不受在静息细胞约束它们的负的膜电位阻碍。K^+ 通过电压门控 K^+ 通道的迅速外流，更加迅速地把膜带回到静息状态，这要比仅仅通过 K^+ 泄漏通道的 K^+ 外流使膜回到静息状态更快。

我们如何得知：乌贼为我们展示膜兴奋性的奥秘

每年春季，皮氏枪乌贼都会迁移到美国东海岸鳕鱼角半岛附近的浅水域来繁衍后代。在那里，它们给马萨诸塞州伍兹霍尔海洋生物实验室的神经生物学家提供了一个极好的系统来研究神经轴突电信号的机制，比起动物间的聚会和繁殖，皮氏枪乌贼的这个价值显得更为重要。

和别的动物一样，皮氏枪乌贼也通过捕食和躲避追捕者得以生存。它们具有迅猛疾驰，迅速加速以及在游泳方向上做出快速改变的能力，这些都帮助它们在觅食过程中躲避危险。皮氏枪乌贼的速度和敏捷度都来自于一种特殊的生物学喷射推进系统：它们把水吸进套腔以后，通过收缩发达的体壁快速地把水从管状虹吸管排出，从而使身体能够在水中向前推进。

皮氏枪乌贼如此迅速而协调的控制肌肉收缩需要神经系统将信号快速地传递到身体。事实上它们天生具备有一些自然界最大的神经纤维，其巨大的轴突可以长达 10 cm，直径是哺乳动物轴突的 100 倍还多——大约是铅笔笔画的宽度。而一般来说，轴突的直径越宽，其传递信号的速度就越快。

19 世纪 30 年代，科学家开始利用皮氏枪乌贼巨大的轴突来对神经细胞的电生理学进行研究。因为这种轴突很大，所以研究者可以将电极插入轴突来测量它的电活动和动作电位，从而使得很多和神经元膜电导有关的问题都得到了解决：在动作电位起始和传递过程中哪些离子比较重要，细胞膜的通透性是在动作电位通过的时候是如何变化的，还有，膜电位的这些变化又是如何调控离子通道的开放和关闭，等等。

动作电位的建立

由于乌贼的轴突很长很宽，装着传导液的玻璃毛细管电极尖端可以沿着长轴方向插入到细胞质深处（图 12-36A）。当有动作电位经过电极尖端的时候，我们就可以测量到轴突内外的电压差——也就是膜电位（图 12-36B）。在轴突的一端加上一种电刺激物就可以产生动作电位：这和在哪一端加刺激无关，因为这种兴奋没有方向性，只要刺激的大小超过了一定的阈值；和其大小也没有无关，动作电位具有全或无的特性。

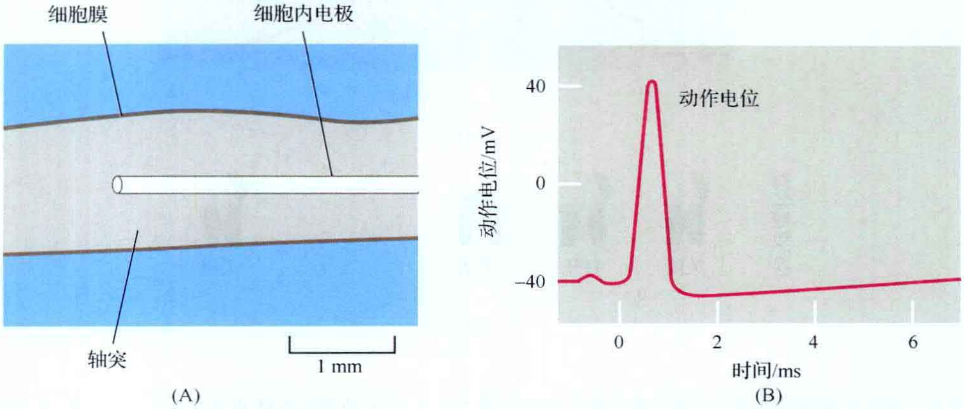


图 12-36　电极能够被插入到枪乌贼的大轴突中（A）以测量动作电位（B）。

一旦研究者能够可靠地生成和测量动作电位，他们就可以利用乌贼的轴突作为研究系统回答与膜兴奋性相关的问题。例如，哪些离子对于动作电位是至关重要的；对于 Na^+、K^+ 和 Cl^- 这三种在轴突内外环境中含量都很高的离子，当有动作电位产生的时候，它们是不是同等重要？由于乌贼的轴突很长很结实，它的细胞质可以从轴突中挤出，就好比挤牙膏一样（图 12-37A）。这时就可以将一些 Na^+、K^+、Cl^- 或 SO_4^{2-} 的纯溶液灌注到轴突中去（图 12-37B）；而这些离子可以单独地加以改变。让人惊奇的是，研究者通过这个实验发现只有当细胞内外 Na^+ 和 K^+ 的浓度和正常生理浓度相近的时候轴突才能够产生动作电位。因此，细胞质膜，Na^+ 和 K^+，以及离子依靠浓度梯度通过细胞质膜提供的能量对于动作电位具有关键的作用；而别的细胞组分，包括新陈代谢能量的其他来源，都可以排除在外。

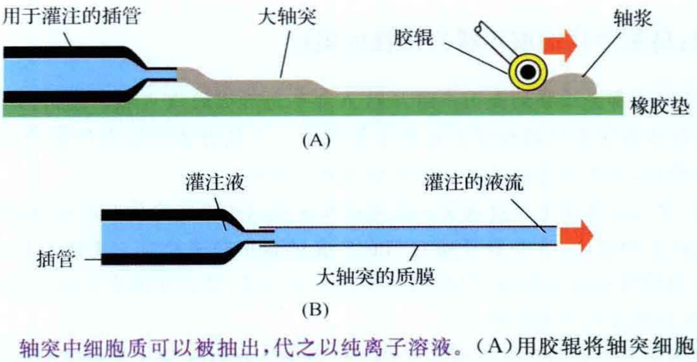


图 12-37　轴突中细胞质可以被抽出，代之以纯离子溶液。（A）用胶辊将轴突细胞质挤出。（B）含有设计好的离子浓度的液体被温和地泵入轴突中。

通道运输

既然 Na^+ 和 K^+ 对于动作电位十分重要，那么它们各自起到了怎么样的作用？细胞膜对于这些离子的通透如何？当动作电位通过的时候细胞膜的这种通透性又是如何变化的？乌贼又再一次为我们提供了答案。Na^+ 和 K^+ 在细胞膜外的浓度可以人为改变，而这些变化对于膜电位的影响也可以直接进行测量。通过研究发现一个轴突的膜电位大小接近于 K^+ 的平衡电位。当外界 K^+ 的浓度改变，轴突的静息膜电位大体上会根据能斯特方程发生变化(图 12-30)。因此，静止状态下，细胞膜对于 K^+ 是具有通透性的；正如我们现在所了解到的，K^+ 泄漏通道是这些离子通过细胞膜的主要通道。

Na^+ 的情况又有所不同。当外界 Na^+ 的浓度改变，轴突的静息膜电位并不会受到影响，但是动作电位的最高值会随着细胞膜外的 Na^+ 浓度的变化而发生改变(图 12-38)。因此，在动作电位通过的时候，由于 Na^+ 通道的开放，细胞膜主要对 Na^+ 具有通透性。动作电位过去以后，Na^+ 通道关闭，膜电位回复到负值，这主要由细胞膜外的 K^+ 浓度决定。此时细胞膜丧失了对 Na^+ 的通透性，这使得 K^+ 的通透性比之前更强。额外 K^+ 通道的开放能够帮助膜电位恢复到静息状态，从而为下一次动作电位做好准备。

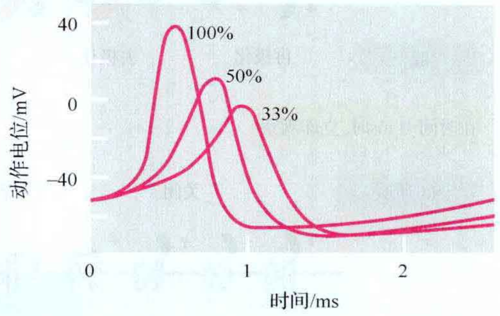
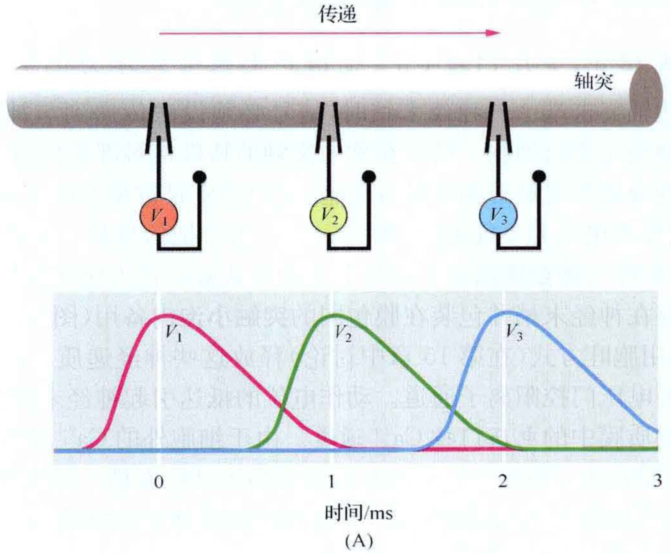


图 12-38　动作电位的形态依赖于细胞膜外 Na^+ 的浓度。图中显示的是当外界介质中 Na^+ 浓度分别是正常浓度的 100%、50%或 33%时所记录到的动作电位。

利用乌贼轴突进行的这些研究对促进我们理解神经兴奋性具有极为重要的贡献，建立这个研究系统从而做出上述发现的科学家在 1963 年被授予诺贝尔奖。

上述一个动作电位仅仅涉及一小片质膜，但是该膜片自放大的去极化足以使一些邻近膜域去极化，使它们也经历相同的自放大循环。动作电位以此方式像行波一样，从去极化的初始部位向外传播，最终抵达轴突的末端(图 12-39)。一旦有动作电位经过，就会产生 Na^+ 和 K^+ 的流动，结果是使得那个位置的 Na^+/K^+ ATP 酶必须不停地工作来恢复轴突细胞质膜的离子浓度梯度。



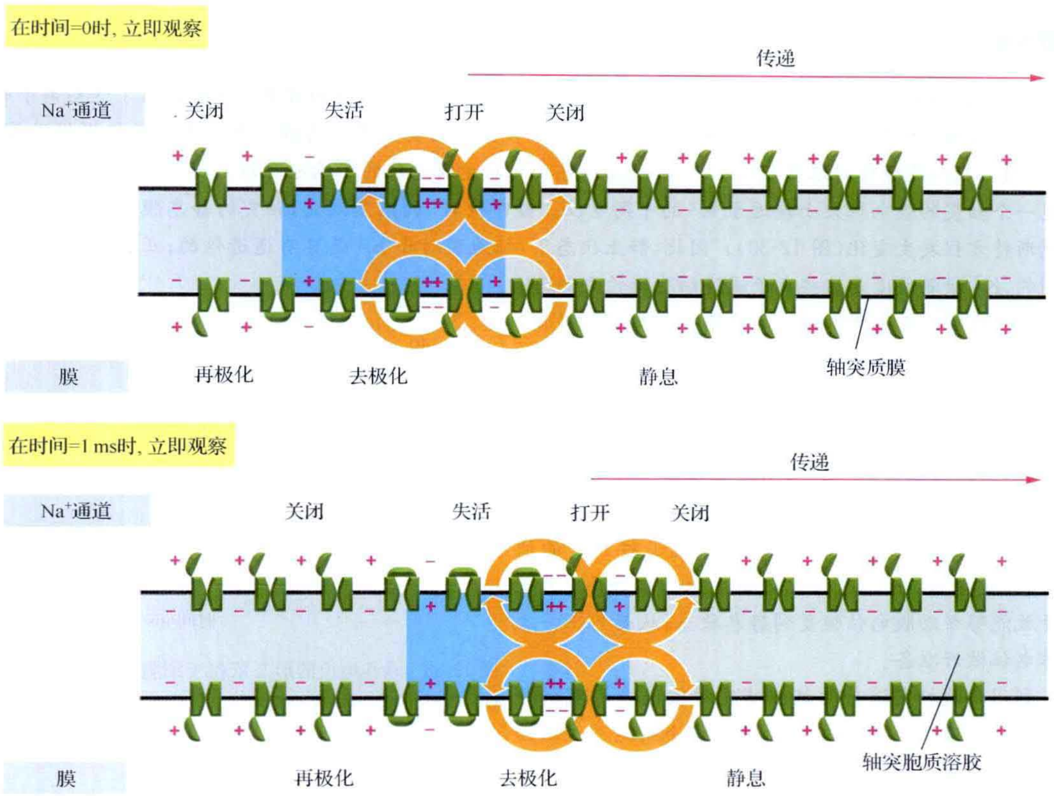


图 12-39 动作电位能够沿轴突传播。(A)本简图显示沿轴突每隔一段距离安置的一组细胞内电极记录到的电压(V_1,V_2 和 V_3)，简图中的间隔宽度被大大夸张了。注意：动作电位在行进中未减弱。激活在 t=0 开始，动作电位的传播方向在图中以红色箭头显示(B)显示 Na^+ 通道和跨膜电流(黄色箭头)的改变，导致膜电位变动，启动动作电位的传播，正如这里以及视频 12.8 所显示的。蓝色的地方显示轴突的去极化膜域。注意：动作电位只能从去极化部位一直传播开去，因为 Na^+ 通道失活阻止了去极化逆向传播(图 12-35)。

12.4.3 在神经末梢处，电压门控 Ca^{2+} 通道把电信号转换为化学信号

当动作电位抵达轴突末端——神经末梢时，信号必须设法传递到与神经末梢接触的靶细胞。靶细胞通常是神经元或肌细胞。信号在称为**突触**的特殊接触部位传递。在许多突触处，传递和接收信号的细胞分别为突触前和突触后细胞，它们的质膜被狭窄的突触间隙(典型的为 20 nm 宽)彼此分开，这使得电信号不能通过(图 12-40)。为了把信息从一个神经元传递到另一个神经元，电信号以一种称为**神经递质**的小信号分子的形式被转化为化学信号。

神经递质被储存在神经末梢并包装在膜包围的**突触小泡**内备用(图 12-40)。当动作电位抵达末梢时，神经末梢用胞吐方式(在第 15 章中讨论)释放这些神经递质。动作电位与分泌之间的联系涉及激活一种电压门控阳离子通道。动作电位的抵达引起神经末梢质膜的去极化，瞬间打开集中在神经末梢质膜中的电压门控 Ca^{2+} 通道。由于细胞外的 Ca^{2+} 浓度比胞质溶胶内的游离 Ca^{2+} 浓度高 1000 倍以上，因此 Ca^{2+} 经打开的通道冲入神经末梢。结果神经末梢的胞质溶胶内 Ca^{2+} 浓度增加，引发突触小泡与质膜融合，释放神经递质到突触间隙内。还是靠着电压门控 Ca^{2+} 通道，此刻电信号被转变为一种化学信号(图 12-41)。

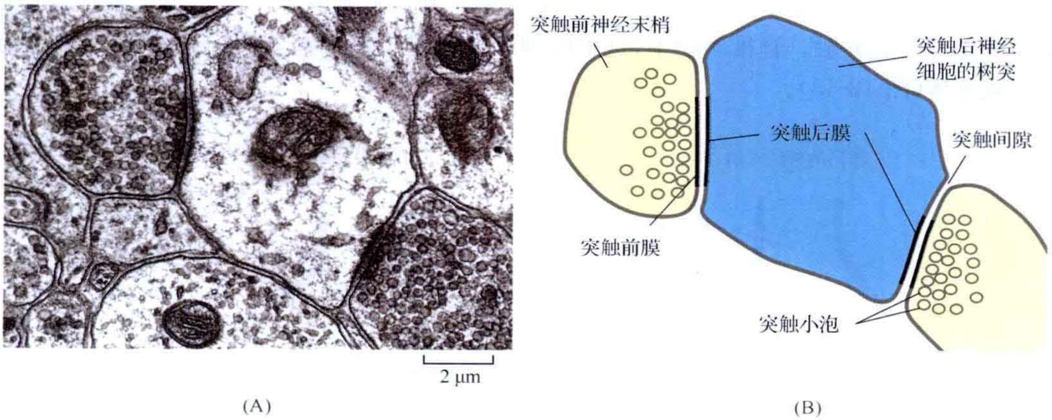


图 12-40　神经元跨膜突触传递化学信号。哺乳动物脑中单个神经细胞树突（蓝色）上与两个神经末梢（黄色）分别形成突触的横切面的电子显微镜照片（A）和图解（B），注意在突触处的突触前和突触后膜是加厚的。（A 蒙 Cedric Raine 惠许）

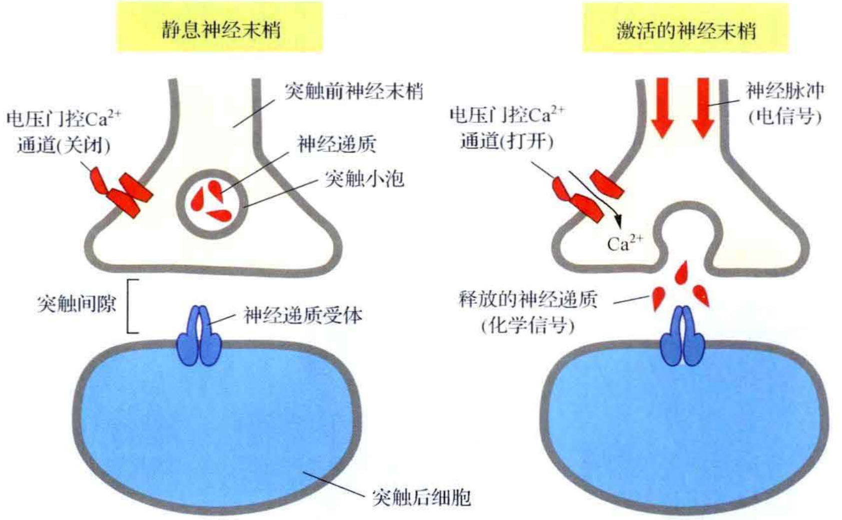


图 12-41　在神经末梢处电信号转化为化学信号。当动作电位抵达神经末梢时，质膜的电压门控 Ca^{2+} 通道被打开，Ca^{2+} 流入末梢内，神经末梢内 Ca^{2+} 的增加刺激了突触小泡与质膜的融合，把神经递质释放到突触间隙中。

12.4.4　靶细胞内的递质门控通道把化学信号转变回电信号

释放的神经递质迅速扩散，跨越突触间隙，并与集中在靶细胞突触后膜中的神经递质受体结合。神经递质与其受体的结合导致靶细胞膜电位的改变，这种改变能引发细胞产生动作电位。随后神经递质被迅速去除——或是被突触间隙内的酶迅速降解，或是以再摄取的方式进入释放递质的神经末梢内，或进入邻近的细胞。神经递质的迅速去除对信号产生了限制作用，保证在突触前细胞平静下来时，突触后细胞也会平静下来。

神经递质受体具有各种类型，一些类型介导靶细胞内比较慢的效应，另一些介导比较快的反应。快速反应（时间为 ms 级）依赖于受体，这些受体是*递质门控离子通道*，这些通道是配体门控离子通道的一个亚类（图 12-25B），它们的功能是把由神经递质携带的化学信号直接转变回电信号。这些通道短暂地开放以应答神经递质的结合，由此改变了突触后膜对离子的通透性，这样再次引起膜电位改变（图 12-42）。假如这种改变足够大，它能引发突触后细胞的动作电

位。对递质门控离子通道研究较为详细的一个例子是神经肌肉接头——神经元和肌细胞之间形成的特化类型的突触。脊椎动物中，这里的神经递质是乙酰胆碱，而该递质门控离子通道是乙酰胆碱受体(图 12-43)。

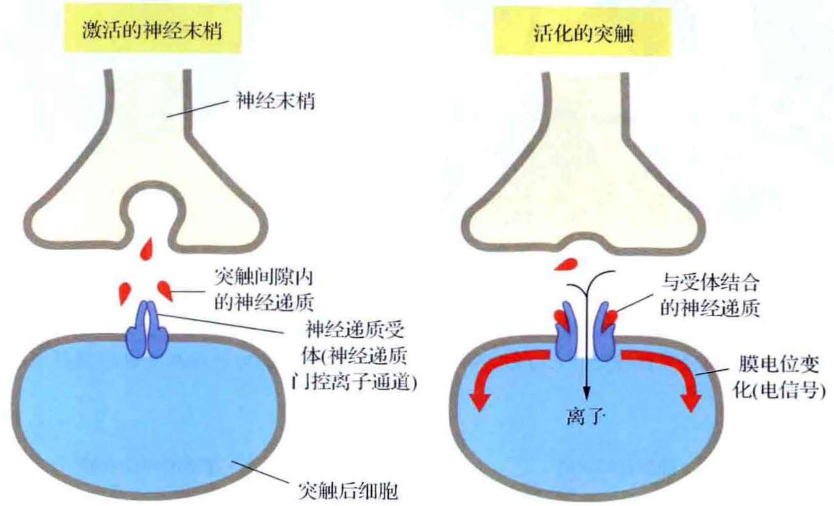


图 12-42 在突触处，由递质门控离子通道把化学信号转化为电信号。释放的神经递质与突触后细胞质膜中的递质门控离子通道结合并打开该通道，离子流改变了突触后细胞的膜电位，因此把化学信号转变回到电信号(视频 12.9)。

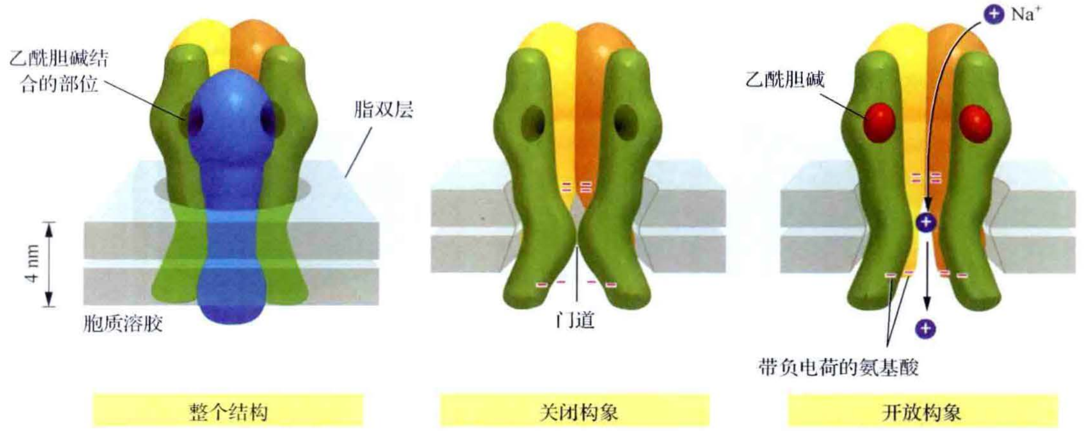


图 12-43 肌细胞膜上分布有乙酰胆碱受体，当由神经释放出来的神经递质乙酰胆碱与它结合的时候，该通道打开。(A)这种递质门控的离子通道由 5 个跨膜蛋白亚基组成，结合形成穿过脂双层的水孔。该孔由 5 个跨膜 α 螺旋排列形成，每个亚基提供一个 α 螺旋。(B)孔两端带负电荷氨基酸侧链(这里用红色短棒指示)保证了只有带正电荷的离子才能够通过，主要是 Na^+ 和 K^+。为了能够看到孔的内部，蓝色亚基在这里被删除以显示孔的内面，当通道处于关闭状态时，在被称为"门"的区域内，疏水氨基酸侧链将孔堵塞。(C)当与乙酰胆碱结合时，通道发生构象变化，这些侧链移开，门被打开，允许 Na^+ 沿着电化学梯度通过细胞膜，K^+(这里没有显示)将顺着其电化学梯度向相反方向流动。即使与乙酰胆碱结合，通道也在开放和关闭之间随机闪变(图 12-24)；然而没有乙酰胆碱的结合，通道则难以开放。

12.4.5 神经元既接收兴奋性输入又接收抑制性输入

在突触处由神经递质产生的反应既可能是兴奋性的也可能是抑制性的。兴奋性神经递质(由兴奋性神经元轴突末梢递送)引起突触后细胞暴发动作电位，而抑制性神经递质(由抑制性

神经元的轴突末梢递送)阻止突触后细胞暴发动作电位。南美印第安人用于制作毒箭和外科医生在手术期间为松弛肌肉使用的药物箭毒,能够阻断神经肌肉接头处兴奋性信号的传递,从而致使麻痹;相反的,毒物马钱子碱——毒鼠药的一种成分,则阻断抑制性信号的传递而致使肌肉痉挛和死亡。

兴奋性和抑制性神经递质与不同的受体结合,而受体的特性造成了兴奋和抑制之间的差别。兴奋性神经递质,主要有乙酰胆碱和谷氨酸,属于配体门控阳离子通道。当这些神经递质与之结合时,通道打开,主要允许阳离子内流,致使质膜向着引发动作电位所要求的阈值电位去极化。因此,这些受体的刺激趋向激活突触后细胞。抑制性神经递质主要有 γ-氨基丁酸(GABA)和甘氨酸,它们的受体通常是 Cl^- 通道。当这些神经递质与之结合时,该通道打开,但只有很少的 Cl^- 进入细胞,因为在静息膜电位时,Cl^- 跨膜迁移的驱动力接近于零。然而,如果这时 Na^+ 通道也被打开,由 Na^+ 内流产生的去极化使得 Cl^- 向胞内迁移,从而中和 Na^+ 内流效应(图 12-44)。按此方式,抑制性神经递质抑制动作电位的产生是通过使靶细胞膜非常难以去极化而实现的。

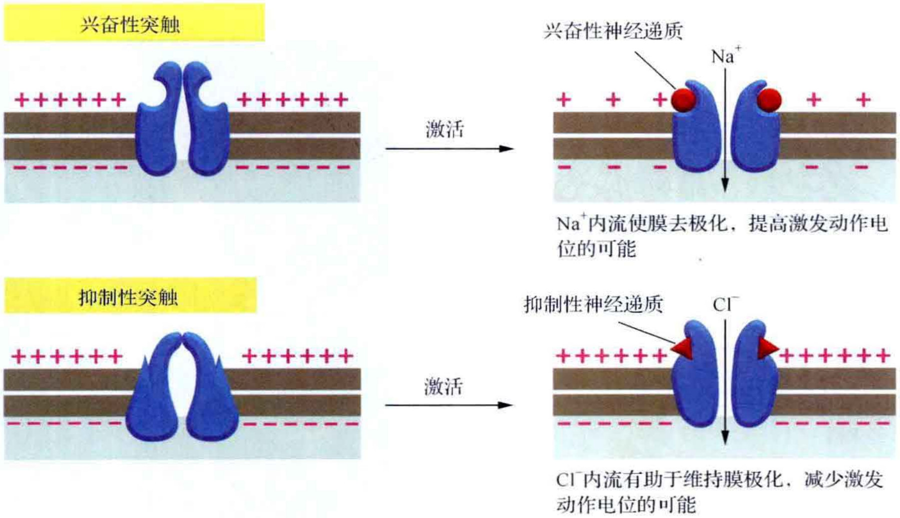


图 12-44 突触具有兴奋性和抑制性的差别。兴奋性神经递质激活允许 Na^+ 和 Ca^{2+} 通过的离子通道,而抑制性神经递质激活允许 Cl^- 通过的离子通道。

12.4.6 递质门控离子通道是精神药物的重要靶点

治疗失眠、忧虑、抑郁和精神分裂症所用的许多药物作用于脑内突触,其中许多通过与神经递质门控离子通道相结合起作用,像安定(valium)、三唑苯二氮(halcion)和羟基安定(temazepam)之类的巴比妥酸盐和镇静剂,能够与 GABA 门控 Cl^- 通道相结合。它们的结合使这些通道比较容易被 GABA 打开,因此使细胞对 GABA 的抑制效应更加敏感。对比之下,抗抑郁症药物普鲁扎克(prozac)阻断兴奋性神经递质 5-羟色胺(又名血清素)的重新摄取,增加了利用这种递质的那些突触处可用的 5-羟色胺量。为什么这个药物能减轻抑郁症仍是一个谜。

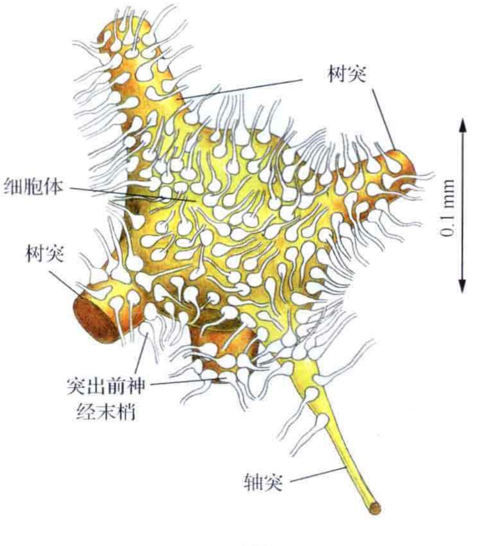
神经递质受体的类型众多,但它们能被归入可数的几个家族如乙酰胆碱、谷氨酸、GABA、甘氨酸和 5-羟色胺受体的许多亚型。它们通常位于不同的神经元内,而且它们的性质往往只有细微的不同。利用如此多种多样的受体,有可能设计出新一代神经药物,这些药物将更有选择性地作用在特殊的一组神经元上,以减轻给如此多人生活带来痛苦的精神疾病,如占人群 1%

的精神分裂症以及亦占 11%的躁狂抑郁症。

12.4.7 突触连接使你能思考、动作和记忆

在突触处，突触前细胞的神经末梢把电信号转变为化学信号，突触后细胞再把化学信号转变回复到电信号。对这些过程的干扰，无论有益或有害，对我们都有巨大的现实意义。但是，为什么进化偏爱如此一种显然效率很差的方法来传递电信号呢？如果在突触前和突触后细胞之间有一种直接的电连接，或者完全不用突触而使用单个的连续细胞，看来不是更有效吗？

当我们将该作用方式放到整个神经系统——一个无比巨大的神经元网络的层面上去考虑时，化学突触的价值变得显而易见。这个庞大的神经元网络由许多支路相互连接，执行复杂的计算，储存记忆和产生行动方案。为了执行这些功能，神经元必须比单单产生和传送信号做更多的事：神经元还必须组合信号、解释信号和记录信号。化学突触使这些功能成为可能。例如，脊髓中的运动神经元接收来自在其上形成突触的千百个其他神经元的输入信号(图 12-45)。其中一些信号趋向刺激这个神经元，而另一些信号趋向抑制它。运动神经元必须综合接收到的所有信息和做出反应，沿其轴突发放动作电位刺激肌肉或保持安静。



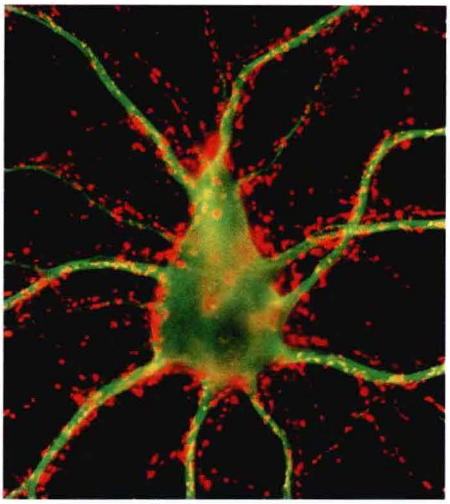


图 12-45 脊髓中一个运动神经元的树突和胞体上形成了成千上万的突出。(A)在神经元上的几千个神经末梢突触，递送来自动物其他部位的信号，控制沿神经元轴突动作电位的发放。(B)一个体外培养的大鼠神经元细胞。其胞体和树突(绿色)被一种能够识别细胞骨架蛋白的荧光抗体所染色。几千个来自其他神经元细胞(不可见)的轴突末梢(红色)和该细胞形成突触；它们被一种识别突出小泡特异蛋白的荧光抗体所染色。电信号沿着轴突放出，跨越到突触处，再经树突到细胞胞体。该信号的传递依赖于离子的跨神经细胞膜运动(B 蒙 Olaf Mundigl 和 Pietro de Camilli 惠许)

从模糊不清的输入信号中计算出适当的输出信号这样一个任务由神经元质膜中不同类型离子通道之间复杂的相互作用来完成。在你脑内几百种类型的神经元中的每一种都有它自己特有的一组受体和离子通道，这些受体和通道能使细胞对某一组输入信号以独特的方式做出反应，履行它的特殊任务。而且，突触处的离子通道和其他成分能按照它们已有过的用途经历持久的修饰，从而保存过去事件的痕迹。以此方式，记忆被储存。因此，离子通道是处于这个机构的核心位置，这个机构能使你活动、思考、感觉、说话和——也许是所有一切中最重要的——阅读与记忆这本书中的所有内容。

- 细胞膜的脂双层对非极性小分子(如氧气、二氧化碳)和非常小的极性分子(如水)具有通透性,而对于大多数大分子,水溶性分子和所有的离子是高度不通透的。营养物,代谢物和离子由膜转运蛋白转运穿过质膜和细胞内膜。
- 细胞膜含有许多转运蛋白,每种转运蛋白负责跨膜转运特殊类型的溶质。有两类膜转运蛋白——载体蛋白和通道蛋白。
- 电化学梯度表示作用于一种离子的净驱动力,综合这种离子的浓度以及电场。
- 在被动转运中,不带电荷的溶质自发移动,顺其浓度梯度而下;带电荷的溶质(离子)自发移动,顺其电化学梯度而下,水顺其渗透梯度而下。在主动转运中,不带电荷的溶质或离子在需能过程中逆其浓度或电化学梯度转运。
- 载体蛋白结合特定的溶质(无机离子,小的有机分子,或两者),并通过改变构象转运它们穿过脂双层。构象变化首先将结合溶质的部位暴露在膜的一侧,然后在另一侧。
- 载体蛋白能作为泵,利用 ATP 水解、Na^+ 或 H^+ 的下坡流动或光提供的能量,逆其电化学梯度转运溶质上坡。
- 动物细胞质膜内的 Na^+-K^+ 泵是一种 ATP 酶,它主动转运 Na^+ 出细胞和 K^+ 进细胞,维持陡峭的跨质膜 Na^+ 梯度,用于驱动其他主动转运过程和传播电信号。
- 通道蛋白形成穿过脂双层的水孔,溶质能通过水孔扩散。由载体蛋白进行的转运可以是主动的,也可以是被动的,而由通道蛋白进行的转运总是被动的。
- 大多数通道蛋白是选择性的离子通道,允许有适当大小和电荷的无机离子顺其电化学梯度下行而穿过膜。通过离子通道的转运比通过任何已知载体蛋白的转运至少快 1000 倍。其他通道则运输水分子或是别的代谢物。
- 大多数离子通道是门控的,瞬间打开以应答特殊的刺激,如膜电位的变化(电压门控通道)或结合配体(配体门控通道)。
- 即使在离子通道被特殊刺激打开时,该通道也不持续开放着:它们随机切换于开和关的构象之间。活跃的刺激增加通道处于开放状态所占的时间比例。
- 质膜两边不均匀的电荷分布决定了膜电位,当离子流经开放的通道时,膜电位发生变化。绝大多数动物细胞内,K^+ 选择性泄漏通道维持静息膜电位在负值,非常接近于 K^+ 跨膜迁移的驱动力接近于零时的值。
- 神经元以动作电位形式传播信号,沿着轴突传播长距离而不减弱。动作电位通常由电压门控 Na^+ 通道介导。它应答质膜的去极化而打开。
- 神经末梢内的电压门控 Ca^{2+} 通道将电信号与突触释放的神经递质耦合起来。在突触后靶细胞内神经递质门控离子通道将这些化学信号转换回电信号。
- 兴奋性神经递质打开对 Na^+ 通透的神经递质门控通道,使突触后的细胞膜朝向启动动作电位的阈电位去极化。抑制性神经递质打开神经递质门控 Cl^- 通道,以此维持突触后细胞膜极化而抑制启动动作电位。

关键词

Na^+-K^+ 泵	动作电位	能斯特方程式	神经元	突触小泡
被动转运	离子通道	偶联转运蛋白	渗透	应力门控通道
电化学梯度	膜电位	配体门控通道	渗透压	载体蛋白
电压门控 Na^+ 通道	膜片钳记录	神经递质	通道	轴突
电压门控通道	膜转运蛋白质	神经末梢	突触	主动转运

问题

问题 12-1 一个简单的酶反应可以用方程式 $E+S \rightleftharpoons ES \rightarrow E+P$ 描述，式中 E 是酶，S 是底物，P 是产物，ES 是酶-底物复合物。

A. 列出一个相应的方程式，描述一种介导溶质(S)顺浓度梯度转运的载体蛋白(T)的工作。

B. 关于载体蛋白功能，这个方程式告诉了你什么？

C. 为什么这个方程式不适宜表述通道蛋白功能？

问题 12-2 细胞内 Ca^{2+} 浓度升高引起肌细胞收缩。像心肌这样快速而有节律交替收缩的肌细胞，除 ATP 驱动的 Ca^{2+} 泵外，还有以 Ca^{2+} 交换胞外 Na^{+} 的跨质膜的对向运输。收缩期间，已进入胞内的大部分 Ca^{2+} 被对向运输迅速地泵回到细胞外，因此细胞得以松弛。乌本苷和毛地黄是治疗心脏病患者的重要药物，因为它们使心肌更强烈地收缩。这两种药物的作用是部分抑制心肌细胞膜中 Na^{+}-K^{+} 泵。你能解释这些药物在患者体内的作用吗？一旦其中一种药物用量过大，将会发生什么后果？

问题 12-3 某种跨膜蛋白具有以下性质：它有两个结合部位，一个针对溶质 A，另一个针对溶质 B。该蛋白质能通过改变构象，在两种状态之间转换：两种结合部位或都只暴露在膜的一面，或都暴露在另一面。仅仅在两个结合部位都被占据或都是空的情况下，蛋白质才能在两种构象状态之间变换，但是如果只有一个结合部位被占据，则不能变换。

A. 这些性质限定在哪种蛋白质？

B. 为将该蛋白质改为同向转运，它把溶质 A 顺浓度梯度上行的迁移耦合至溶质 B 顺浓度梯度下行的迁移，为此你需要指定什么附加性质吗？

C. 列出一组判定对向运输的规则。

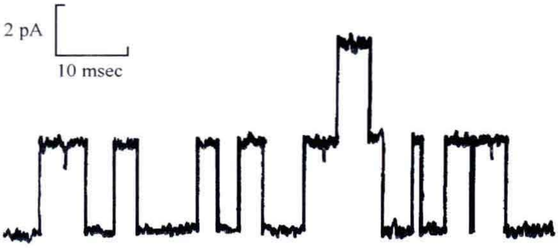


图 Q12-4

问题 12-4 图 Q12-4 显示一次膜片钳实验记录，其中把通过膜片的电流作为时间的函数来计量电流与时程的关系。该膜片是用图 12-23 中显示的技术在肌细胞质膜上取得的，含有乙酰胆碱受体分子，它是配体-门控阳离子通道，乙酰胆碱与通道蛋白的细胞外表面结合使通道开放。为了记录到电流，乙酰胆碱被加在微电极里的溶液内。从这个记录中，关于这一通道你能知道些什么？请叙述。假如乙酰胆碱(i)被去除或(ii)只加在微电极外面的溶液内，实验记录会有何不同？

问题 12-5 根据表 12-1 中列出的浓度，计算 K^{+} 和 Na^{+} 的平衡膜电位(假定细胞内 Na^{+} 浓度为 10 mmol/L)。你预计静息细胞内的膜电位为多少？解释你的回答。如果大量的 Na^{+} 通道突然开放，使膜对 Na^{+} 的通透比 K^{+} 多得多，这将发生什么情况？(注意：由于只需要少数离子穿越膜从而使跨膜电荷分布激烈改变，你可假定膜两边的离子浓度没有发生显著变化。)如果这些 Na^{+} 通道再关闭，你预期接着将会发生什么情况？

问题 12-6 用少于 100 个字解释动作电位如何沿轴突传播。

问题 12-7 重症肌无力疾病中，人体错误地对其自身乙酰胆碱受体分子产生抗体，这些抗体与肌细胞质膜上的乙酰胆碱受体结合并使其失活。该疾病导致患者灾难性地衰弱进程，例如，早期他们可能难以张开眼睑。在这种疾病的动物模型中，兔子难以竖起它们的耳朵。随着疾病的发展，多数肌肉萎缩，患者说话和吞咽困难，最后因呼吸损害而死亡。请解释肌肉功能中的哪一步受到了影响？

问题 12-8 图 12-6 显示一种被动的载体蛋白，它介导一种溶质顺其浓度梯度而被转运穿过膜。你需要对此图作如何改变，使载体蛋白改变成一种可借助水解 ATP 使溶质逆其电化学梯度转运的泵？解释你的新图解中每一步骤的必要性。

问题 12-9 以下哪种状况是对的？解释你的回答。

A. 质膜对所有带电荷的分子是高度不通透的。

B. 通道蛋白必须首先与溶质分子结合，然后才能选择它们允许通过的溶质分子。

C. 载体蛋白允许溶质穿过膜的速率比通道蛋白的快得多。

D. 某些 H^+ 泵由光来供能。

E. 许多动物细胞的质膜含有打开的 K^+ 通道，可是胞质溶胶内的 K^+ 浓度比细胞外的高得多。

F. 如果分子在膜内的取向被颠倒(也就是如果分子通常暴露于胞质溶胶的部分改为面向细胞外面)，则同向转运将起对向运输的作用。

G. 当有动作电位刺激时，轴突的膜电位瞬时负值增大。

问题 12-10 将下列复合物按照脂双分子层通透性从弱到强的顺序进行排列：RNA，Ca^{2+}，葡萄糖，乙醇，氮气，水。

问题 12-11 说出以下名词之间至少一个相似之处和至少一个不同之处(术语汇编可能有助于复习这些术语的定义)。

A. 同向转运和对向运输。

B. 主动转运和被动转运。

C. 膜电位和电化学梯度。

D. 泵和载体蛋白。

E. 轴突和电话线。

F. 溶质和离子。

问题 12-12 讨论下列陈述："通道蛋白和载体蛋白之间的差别好像桥和渡船之间的差别。"

问题 12-13 神经递质乙酰胆碱在胞质溶胶内形成，然后被转运到突触小泡内。突触小泡内乙酰胆碱的浓度比胞质溶胶内的高 100 倍以上。当突触小泡与神经元分离，且有 ATP 存在时，它们能摄取额外加到突触小泡悬浮的溶液中的乙酰胆碱。摄取乙酰胆碱不需要 Na^+，但奇怪的是悬浮突触小泡的溶液 pH 增加，可以提高摄取乙酰胆碱的速率。而且，当加入药物使膜对 H^+ 通透时，这一转运被抑制。请提出一个机制，与所有这些观察相一致。

问题 12-14 一个细胞静息膜电位大约 −70 mV，脂双层厚度约 4.5 nm。穿越膜的电场强度是多少 V/cm? 如果你将这个电压施加在被 1 cm 空气间隙隔开的两个金属电极上，你设想会发生什么情况?

问题 12-15 在水中脂双层形成封闭球形小泡(见第 11 章)。假设你已经构建了含 Na^+-K^+ 泵作为唯一膜蛋白的脂质小泡，并为简化起见假设每个泵在一个泵循环中一个方向转运 Na^+，另一方向转运 K^+。所有的 Na^+-K^+ 泵分子通常都有面向胞质的部分，现在朝向小泡外面。参考图 12-11，确定将发生什么情况。

A. 你的小泡悬浮在含有 Na^+ 和 K^+ 的溶液内，并且小泡内溶液有同样的离子组成。

B. 你把 ATP 加到 A 中描述的悬浮液内。

C. 你加入 ATP，但是小泡内外的溶液内仅含 Na^+ 而不含 K^+。

D. 嵌入每一小泡膜内的泵分子有一半取相反方向，所以这些分子通常的胞质部分现在面向小泡里面。然后你加 ATP 到悬浮液中。

E. 你往 A 中所述悬浮液中加 ATP，但是你的小泡膜除了含有 Na^+-K^+ 泵以外，还含有 K^+ 泄漏通道。

问题 12-16 列举能对离子通道进行门控的三种方法的名字。

问题 12-17 1000 μm^3 大小的细胞上有 1000 个质膜 Ca^{2+} 通道打开，胞质溶胶 Ca^{2+} 浓度为 100 nmol/L。为了使胞质溶胶 Ca^{2+} 浓度上升到 5 μmol/L，这些 Ca^{2+} 通道需要停留在开放状态多长时间? 实际上细胞外介质内有无限的 Ca^{2+} 可利用(在大多数动物细胞生活的细胞外介质中 Ca^{2+} 浓度有几 mmol/L 之多)，而且每个通道每秒钟通过 10^6 个 Ca^{2+}。

问题 12-18 动物细胞利用质膜中的同向转运摄入氨基酸，最可能是什么离子的电化学梯度驱动这种摄入? 这过程中消耗 ATP 吗? 如果这样，如何进行?

问题 12-19 在第 15 章中我们将看到细胞内体，它是胞内的膜被细胞器，为执行其功能，需要其内 pH 为酸性。酸化是通过这种内体膜中的一种 H^+ 泵实现的。内体膜也含有 Cl^- 通道。如果这些通道运行不正常(例如，因为编码这种通道蛋白的基因突变)，则酸化也被削弱。

A. 你能解释 Cl^- 通道可能如何有助酸化吗?

B. 根据你的解释，Cl^- 通道对于降低内体内 pH 是绝对需要的吗？

问题 12-20 一些细菌能生长在作为它们唯一碳源的乙醇(CH_3CH_2OH)或乙酸(CH_3COO^-)上。Schwips 博士测定了这两种化合物穿过细菌质膜的速率，但是由于其中一种化合物(哪一种)的过多吸收，不能准确地标出数据。

A. 根据下面表中的数据作图表示。

B. 根据你画的图判断描述化合物 A 的数据是对应于乙醇还是对应于乙酸的摄入。

C. 推算化合物 A 和 B 在 0.5 mmol/L 和 100 mmol/L 时的转运速率。(该问题需要你熟悉第 3 章中讨论的酶动力学原理)

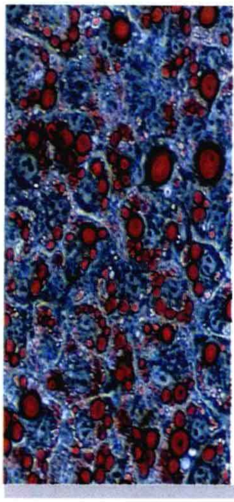
解释你的回答。

碳源的浓度/(mmol/L)	转运速率/(mol/min)	
	化合物 A	化合物 B
0.1	2.0	18
0.3	6.0	46
1.0	20	100
3.0	60	150
10.0	200	182

问题 12-21 乙酰胆碱门控阳离子通道不能区分 Na^+、K^+ 和 Ca^{2+}，使得这 3 种离子可以自由通过。那么为什么当乙酰胆碱和肌肉中该通道复合物结合的时候，通道被打开，并且存在主要是 Na^+ 的大量净流入的现象？

问题 12-22 由神经介质(如乙酰胆碱，谷氨酸，GABA 或甘氨酸)调节的离子通道都具有相似的蛋白结构。但是这些通道都由很多亚型组成，它们间的配体亲和力、通道电导性以及通道打开和关闭速率都不同。你认为这种极端差异对于医药工业来说是一件好事还是一件坏事？

(费　聪　译)



13

13.1　糖和脂肪的分解及利用
13.2　代谢的调节

细胞如何从食物中获得能量

正如我们在第3章中提到的，细胞需要持续的能量供给，才能产生并维持生物学的有序性，从而才能存活下来。这种能量来自于食物分子中的化学键能，所以这些食物分子充当着细胞的燃料。

糖可能是最重要的燃料分子。植物通过光合作用制造它自己的糖，而动物细胞通过食用别的生物，获取糖及其他可被分解成糖的分子如淀粉。不管怎样，动物及植物中的糖被氧化而产生能量的过程是很相似的。在动物或植物的体内，随着一个糖分子被分解并氧化成 CO_2 及 H_2O，机体内的细胞从储存在糖中的化学键能中获得了能量。这些能量以"高能"化学键——一种水解时能释放大量能量的共价键——的形式储存在ATP及NADPH等活化载体分子中。这些活化载体分子转而作为轻便的化学基团源及电子源，满足生物合成作用的需要(第3章)。

我们在本章中跟踪细胞中糖分解代谢的主要步骤，并显示这些氧化过程如何产生ATP、NADH及其他活化载体分子。我们集中于葡萄糖的降解上，因为其中的反应是大部分动物细胞的能量生产的主要途径。在植物、真菌及许多细菌中，运作的是一条很相似的途径。别的分子，如脂肪酸及蛋白质，如果它们能被汇集至那些合适的酶解途径中去，它们也能作为能源。我们还能看到糖和脂肪分解产生的分子中有多少可以成为构成细胞的大分子。最后，我们将研究细胞如何调节自身的新陈代谢以及它们怎样为以后的新陈代谢需求储存食物分子。关于细胞如何产生它们自身所需的大多数ATP的讨论将放在第14章。

13.1　糖和脂肪的分解及利用

若一个燃料分子如葡萄糖仅通过一个步骤被氧化成 CO_2 和 H_2O(像在非生物系统中发生的那样)，那么这个过程将产生远远大于任何载体分子能够捕获的能量。而活细胞在酶的作用下通过一系列严密控制的反应发生氧化作用。如图13-1所示，一个葡萄糖分子依靠偶联的反应被逐步地降解同时释放小量的能量给活化的载体分子。这样，氧化葡萄糖产生的许多能量被储存在ATP和其他活化载体分子的高能键中，以备细胞在做有用的事情时使用。

动物细胞制造ATP有两条途径。首先，一系列酶催化反应中的一些步骤被直接和能量方面不利的反应 ADP+Pi ⟶ ATP 耦合，而食物分子氧化生成的能量使这种不利反应得以进

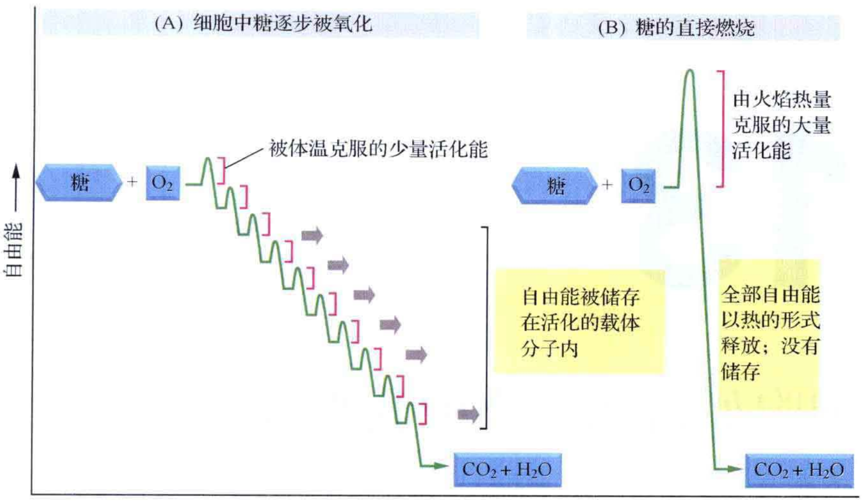


图 13-1 与普通燃烧不同，细胞中糖的逐步进行的受控氧化作用并保存有用的能量的模式图。在细胞中，酶通过许多小步的反应催化氧化作用，这些小步反应将一份份大小适中的自由能转移给载体分子——最常见的是 ATP 及 NADH。在每一步，一个酶通过降低活化势能垒（energy barrier）而控制这个反应。要使一个给定的反应发生，必须通过分子在细胞温度（体温）下的随机碰撞而越过这个活化能势垒。葡萄糖氧化释放的所有自由能为 686 kcal/mol (2880 kJ/mol)，(A)和(B)中释放的自由能完全相同。

行。然而，大多数 ATP 合成发生在线粒体内，并利用来自活化载体分子的能量驱动 ATP 的生产，这个涉及线粒体膜的过程在第 14 章有详细介绍。在本章中我们集中于第一个反应序列，通过它，胞质和线粒体内的食物分子被氧化。这些反应在产生 ATP 的同时也生成活化载体分子，活化载体分子随后在线粒体膜上驱动更多的 ATP 产生。

13.1.1 食物分子分三个阶段分解

蛋白质、脂肪和多糖构成我们所吃食物的大部分，无论是作为能源还是构成其他分子，这些食物必须被分解成比较小的分子才能为我们的细胞所利用。这种利用酶将复杂分子降解成简单分子的过程被称为**分解代谢**。分解代谢必须作用于从外界摄入的食物，而不是作用于我们自身细胞中的大分子。因此，食物分子的酶促分解作用的第一阶段是*消化作用*，它或者在细胞外（小肠中）进行，或者在细胞内一种叫做溶酶体的特化的细胞器中进行。一层膜包围着溶酶体，使它的消化酶与细胞质分隔开（第 15 章）。

消化酶将食物中巨大的聚合物分子分解成它们的单体亚基：蛋白质被分解成氨基酸，多糖被分解成小分子糖，脂肪被分解成脂肪酸和甘油。消化以后，源自食物的有机小分子进入细胞胞质中，在那里它们开始逐渐被氧化。如图 13-2 所示，氧化作用进一步发生在两个阶段中：第二阶段开始于细胞质终止于线粒体内，而第三阶段限于线粒体。

在细胞分解代谢的第二阶段，一条称为*糖酵解*的反应链将每个葡萄糖分子转变成两个比较小的丙酮酸分子。除葡萄糖外的其他糖在转变成这个糖酵解途径中的糖中间物后，也同样能被利用。在形成丙酮酸期间产生两种类型的活化载体分子，即 ATP 和 NADH。然后丙酮酸从胞质中被运送到线粒体巨大的内部区域，或基质中。在那里，一个巨大的酶复合体将每个丙酮酸分子转变成 CO_2 及**乙酰 CoA**，乙酰 CoA 是第 3 章中讨论过的另一个活化载体分子（图 3-36）。源自脂肪的脂肪酸一步步地分解和氧化也会产生大量的乙酰 CoA。

食物分子氧化分解的第 3 阶段完全在线粒体中进行。乙酰 CoA 中的乙酰基被转运到草酰乙酸上形成柠檬酸从而进入称为*柠檬酸循环*的一系列反应。在这些反应中乙酰基被氧化成 CO_2，并产生大量的高能电子载体 NADH。最后，来自 NADH 的高能电子沿着线粒体内膜中被称为*电子传递链*的一系列酶传递，在那里由它们的传递所释放的能量用于驱动 ATP 的产生过程并消耗分子氧（O_2）。在最后的这些步骤中由氧化作用释放的大部分能量被用来生产细胞的大部分 ATP。

通过产生 ATP，来自糖及脂肪分解作用的能量以在细胞中能方便被利用的形式被重新打

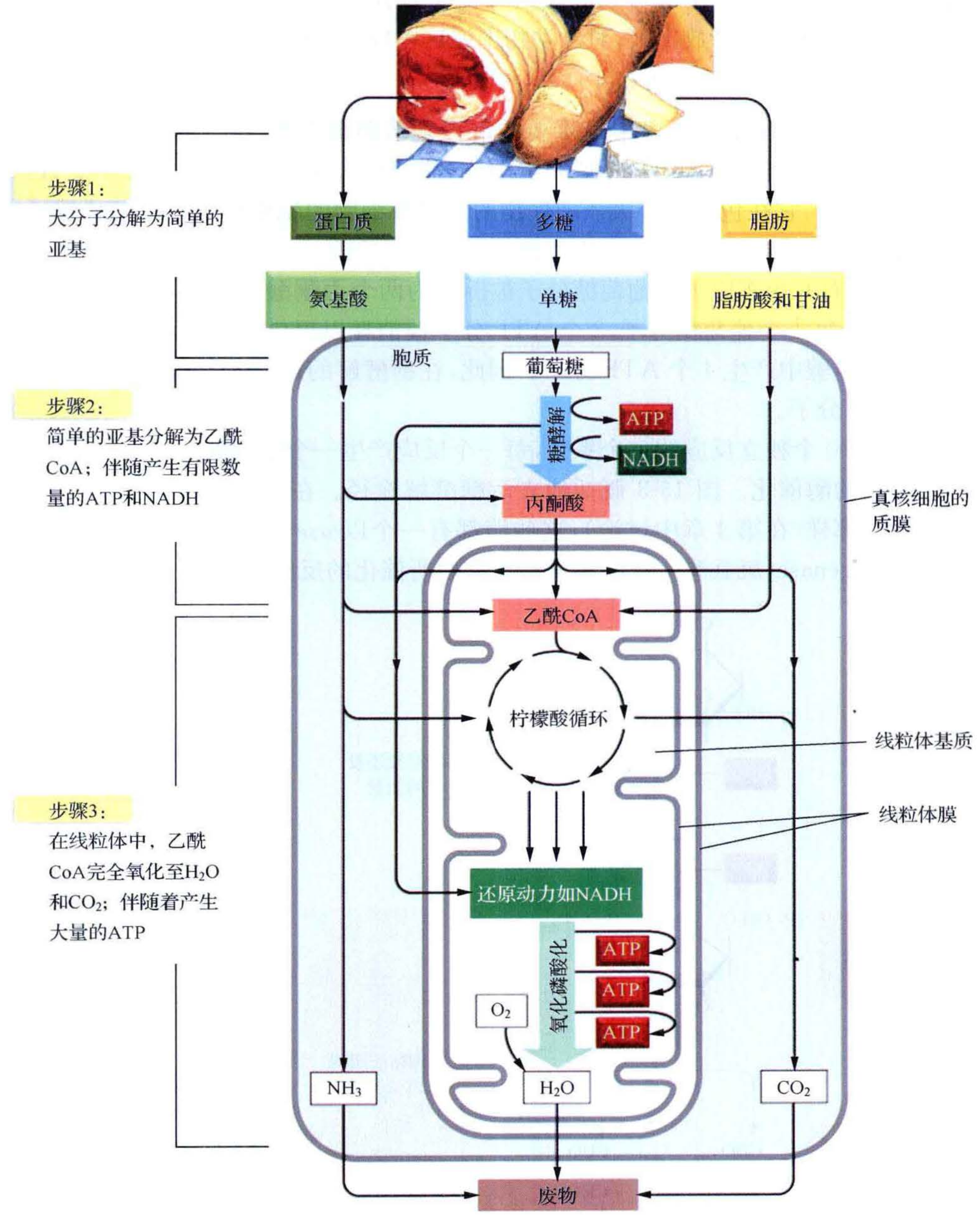


图 13-2　在动物细胞中细胞代谢的 3 个阶段将食物转变为废物的简化图解。这一系列反应产生 ATP，然后将其用于驱动生物合成反应以及细胞中别的需能过程。第一阶段在细胞外进行——虽然细胞内有一种特殊的被称为溶酶体的细胞器可以消化大分子。第二阶段除最后一步外主要在细胞质中进行，最后一步是将丙酮酸转变为乙酰 CoA 上的乙酰基，这一步在线粒体中进行。第三阶段在线粒体中进行。

包成一份份的化学能量。在任一时刻一个典型细胞的胞质中大约有 10^9 个 ATP 分子，并且在许多细胞中，所有这些 ATP 每 1～2 min 就全部更新（消耗掉并被补充）。一个休息中的人平均每 24 h 消耗掉相当于其体重的 ATP 分子。

总之，在理论上这些能量的一半可来自于使葡萄糖或脂肪酸变为 H_2O 及 CO_2 的氧化作用，它们被捕获并用于驱动在能量方面不利的反应 $Pi + ADP \longrightarrow ATP$。相比之下，一台现代内

燃机如汽车发动机，从其燃料中所得到的能量可转换为有用功的不大于其 20%。在这两种情况下，其余的能量作为热被释放出去，对于动物来说这些释放的热用来温暖自己的身体。

13.1.2 糖酵解是一条重要的 ATP 生产途径

食物分子分解作用的第二阶段中最重要的过程是**葡萄糖**降解，这一系列反应称作**糖酵解**(glycolysis)。glycolysis 这个词源自希腊字 *glykos*(甜)及 *lysis*(分解)。糖酵解产生 ATP 而不需要氧(O_2)的参与。它在包括许多厌氧微生物的大多数细胞的胞质中进行。糖酵解可能是生命史早期演化而形成的，这发生在光合生物将氧引入大气之前。

糖酵解时，具有 6 个碳原子的葡萄糖分子被拆分为两个**丙酮酸**分子，其中每 1 个丙酮酸含 3 个碳原子。对于每一个葡萄糖分子，2 个 ATP 分子被消耗以提供能量驱动前面的几个步骤，但在后面的几个步骤中产生 4 个 ATP 分子。因此，在糖酵解的最后阶段每分解 1 个葡萄糖分子净得 2 个 ATP 分子。

糖酵解包括 10 个独立反应的一个系列，每一个反应产生一个不同的糖中间体，并且每一个反应由一个不同的酶催化。图 13-3 概括地表示糖酵解途径。在图版 13-1 中表示得更详细一些。像大多数酶那样(在第 4 章中讨论)，这些酶都有一个以-*ase* 结尾的名字，如 isomerase(异构酶)及 dehydrogenase(脱氢酶)，这些名字指出它们所催化的反应的类型。

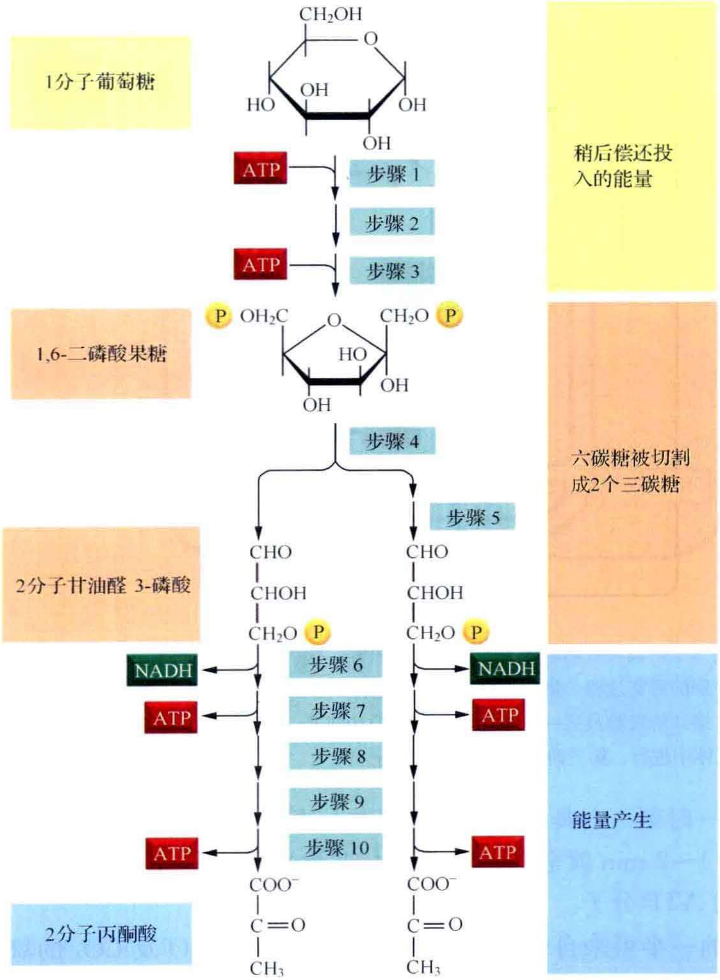


图 13-3 **从糖酵解开始的糖分步氧化。**糖酵解的 10 个步骤，每一步由一个不同的酶催化。注意第 4 步把一个六碳糖分割为 2 个三碳糖，故在此之后每一阶段的分子数都加倍。如已指出的，第 6 步开始进入糖酵解的产能状态，带来 ATP 和 NADH 的净合成(图版 13-1)。糖酵解有时候也以发现它的化学家的名字命名为 Embden-Meyerhof 通路。回顾糖酵解的所有步骤见视频 13.1。

虽然没有分子氧参与糖酵解，氧化作用却发生了：电子被 NAD^+ 从葡萄糖分子的一些碳上移走，生成 NADH。这个过程的分阶段式的性质使氧化作用的能量可以一小份一小份地释放，因此其中大部分能量能被储存在载体分子中而不是全部以热的形式释放掉（图 13-1）。氧化作用释放的一部分能量驱动 ADP 与 Pi 直接合成 ATP，由于这个过程中一个磷酸基团从底物分子（一个糖中间物）被直接转移到 ADP，因此糖酵解合成 ATP 被称为*底物水平磷酸化*。剩余的能量被保留在 NADH 的电子中。

在糖酵解过程中每一个葡萄糖分子形成两个 NADH 分子。在需氧生物中，这些 NADH 分子将它们的电子贡献给第 14 章中所描述的电子传递链。这些电子沿这条链传递至氧（O_2），形成水，从 NADH 形成的 NAD^+ 被糖酵解重新利用（图版 13-1 的第 6 步）。20 世纪 30 年代糖酵解途径被完整拼合起来，这是生物化学的一大成功，并且紧接着又认识到 ATP 在细胞过程中的重要作用。

13.1.3 发酵使 ATP 在无氧条件下产生

对于大多数动物及植物细胞，糖酵解只是食物分子分解的第三个也是最后阶段的一个前奏。该阶段通过消耗氧，大量的 ATP 经氧化磷酸化在线粒体内被生成。但是对于许多厌氧生物，它们并不利用分子氧，没有氧也能生长与分裂，糖酵解是这类细胞中 ATP 的主要源泉。一些动物组织也是这样的情况，如骨骼肌，当氧气有限时它们能够继续工作。在这些无氧条件下，丙酮酸及 NADH 留在细胞质中。丙酮酸被转变成可从细胞分泌出去的产物，如在酿造及制作面包的酵母中丙酮酸被转变为乙醇及 CO_2，在肌肉中丙酮酸被转变为乳酸。在这些过程中，NADH 给出它的电子并且再次被转变为 NAD^+。NAD^+ 的这种再生是维持糖酵解反应所需要的（图 13-4）。类似这样的无氧产能途径称为**发酵**。对由酵母菌进行的有重要商业价值的发酵作用的研究，产生了许多早期的生物化学知识。

许多细菌和古生菌也能在无氧条件下通过非氧气作为电子受体的*无氧呼吸*过程产生 ATP。无氧呼吸不同于发酵，因为它包含一条嵌入膜的电子传递链。

13.1.4 糖酵解说明酶如何将氧化作用与能量储存耦合

第 3 章中我们用了一个“叶轮”的类比，解释细胞如何通过酶从有机分子的氧化作用获取有用的能量，从而将一个能量方面不利的反应耦合至一个能量方面有利的反应（图 3-30）。为了准确说明酶——我们比作叶轮——如何使偶联的反应发生，我们来更仔细地看看一对关键的糖分解反应。

糖酵解中的两个重要反应（图版 13-1 中的第 6 步及第 7 步）将三碳糖中间体甘油醛 3-磷酸（一种醛）转变成 3-磷酸甘油酸（一种羧酸）。结果是在两步反应中一个醛基氧化成一个羧基。这整个过程释放足够多的自由能，将一个 ADP 分子转变为 ATP，并将两个电子从醛转移到 NAD^+ 而形成 NADH，同时向环境释放足够的热，使整个反应在能量方面是有利的[整个反应的 ΔG^o 是－3.0 kcal/mol（－12.5 kJ/mol）]。

图 13-5 详细描述了这个技艺惊人的能量收获反应。化学反应受两个酶精确指导，那些糖中间体紧密地与酶结合。其实，如图 13-5 所显示的，第一个酶（甘油醛 3-磷酸脱氢酶）可通过酶上一个活性的—SH 与醛结合形成一个短寿命的共价键，并且当它仍处在结合状态时催化醛的氧化。然后，这个有反应活性的酶与底物之间的键被一个无机磷酸根离子代替，产生一个高能磷酸中间体 1,3-二磷酸甘油酸变位酶，从酶上释放下来，再与第二个酶（磷酸甘油酸激酶）结合。这个酶然后催化中间体的高能磷酸基转移至 ADP（这个转移在能量方面是有利的），从而形成 ATP，并完成一个醛氧化成一个羧酸的过程。

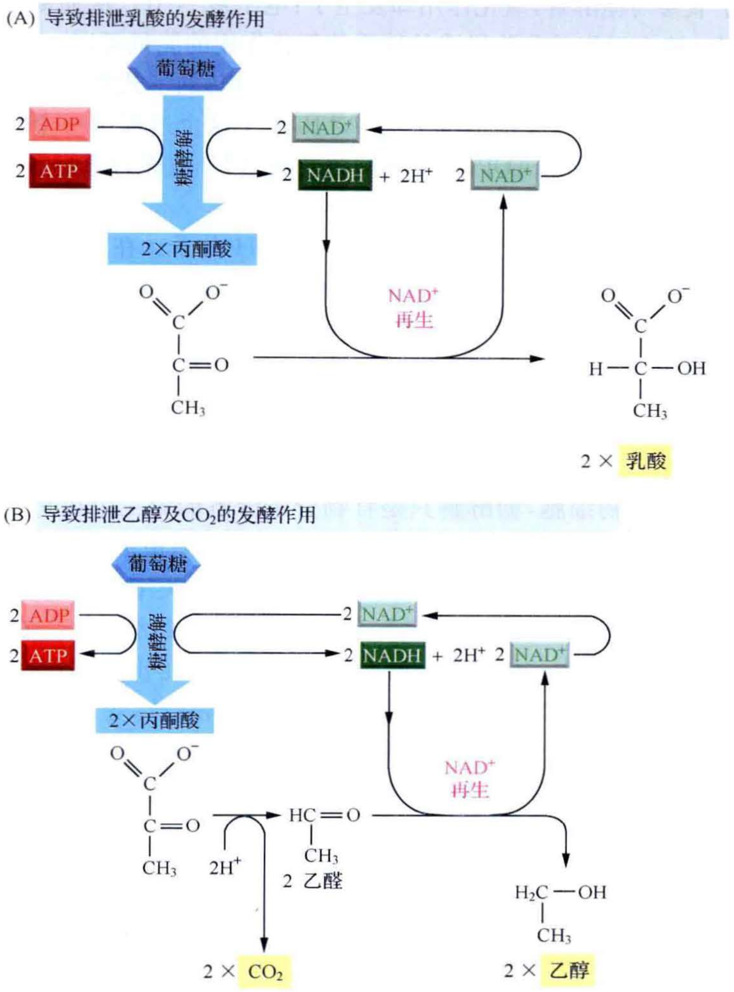


图 13-4 丙酮酸能够通过发酵被无氧分解。(A)当氧不足时,由糖酵解产生的丙酮酸转变为乳糖,如一个经受强烈收缩的肌细胞。如图所示。这个反应恢复糖酵解第 6 步中消耗掉的 NAD^+,但是这整个途径总的产能量远小于完全的氧化作用。(B)在有些可以厌氧生长的生物如酵母中,丙酮酸经过乙醛转变为二氧化碳和乙醇。这条途径又一次从 NADH 再生 NAD^+,这是使糖酵解能继续进行下去所需要的。(A)和(B)两者都是发酵的例子。

我们比较详细地讨论了这个特殊的氧化过程,因为它提供了由酶介导的通过耦合反应来储存能量的清楚范例(图 13-6)。这两步反应(第 6 步、第 7 步)是糖酵解中仅有的直接从无机磷酸创建高能磷酸键的反应。这样,它们导致了每个葡萄糖分子净产两个 ATP 分子和两个 NADH 分子。如我们已经提到的那样,这些 NADH 必须被重新氧化成这些偶联反应所需要的 NAD^+。如果缺少 NAD^+ 的话,糖酵解就会停止(图 13-4)。

正如我们所看到的那样,当形成比 ATP 中的高能磷酸键能量更高的反应中间物时,从 ADP 容易形成 ATP。通过比较每个键经水解作用裂解所发生的标准自由能的变化(ΔG°)大小,可以为磷酸键排序。图 13-7 比较了 ATP 中的高能磷酐键及糖酵解中产生的另一些磷酸键的键能。如图版 3-1 解释的那样,我们将键描述为“高能”只是因为它们水解时在能量方面是有利的。

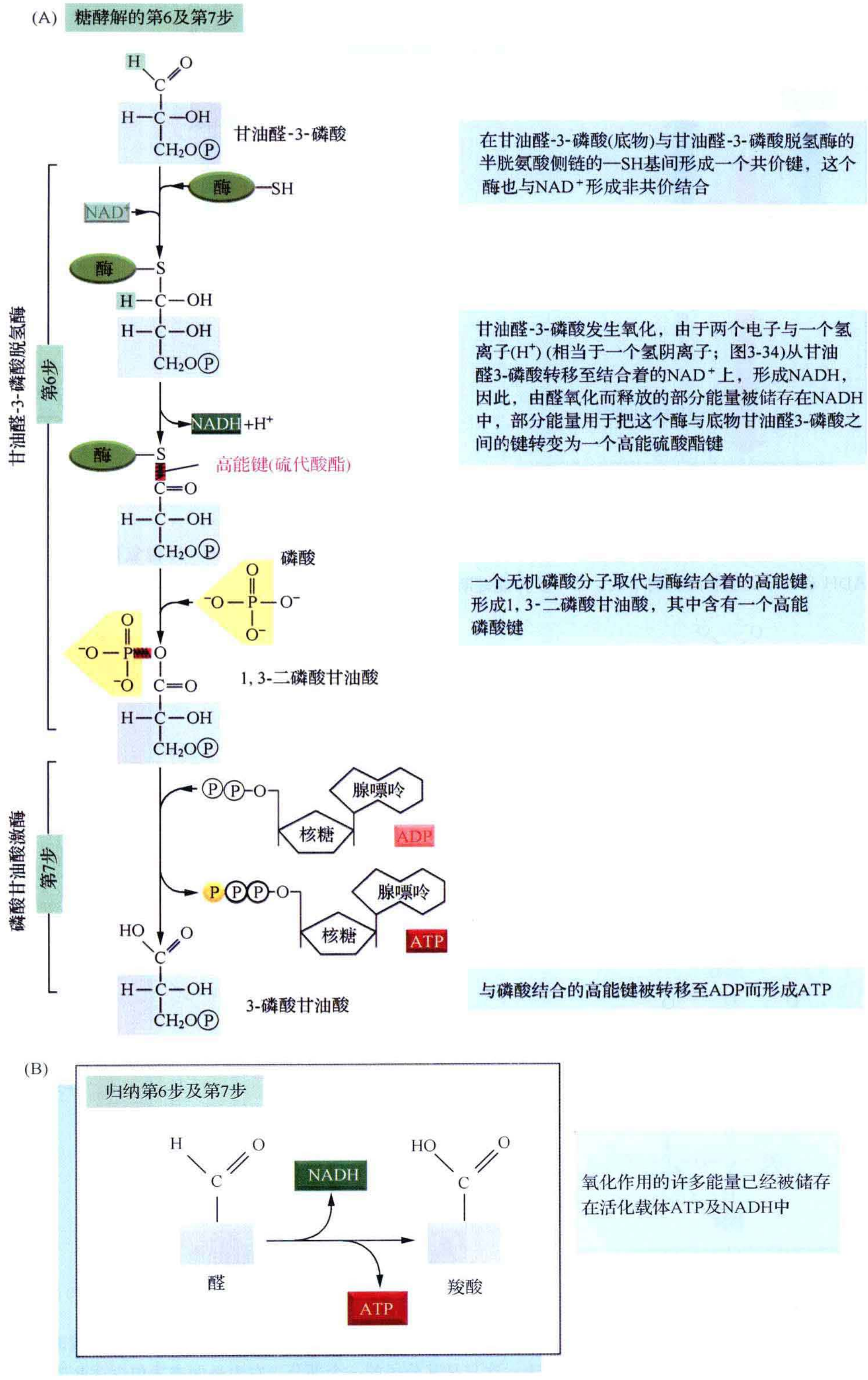


图 13-5　糖酵解第 6 步及第 7 步中的能量储存。在这几步中一个醛基氧化为羧基的反应与 ATP 和 NADH 的形成相耦合。(A) 第 6 步甘油醛 3-磷酸脱氢酶把能量方面有利的醛基的氧化反应耦合至在能量方面不利的一个高能磷酸键的形成上。同时这个酶使能量储存于 NADH。高能磷酸键的形成由氧化反应驱动，因此这个酶起“叶轮”偶联器的作用（图 3-30B）。在反应第 7 步，1，3-二磷酸甘油酸变位酶中新合成的高能磷酸键被转移到 ADP，形成一分子的 ATP 并在氧化的糖上留下一个羧酸基团。这个反应由磷酸甘油酸激酶催化。注意阴影部分的甘油醛 3-磷酸分子（灰色）在整个反应中保持不变。(B) 概括反应 6 和 7 中发生的化学变化。

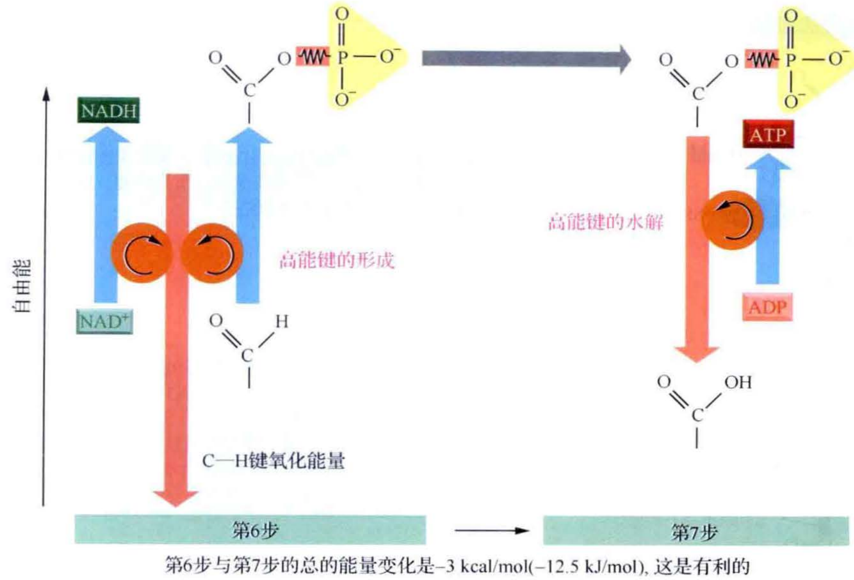


图 13-6 糖酵解第 6 和第 7 步耦合形成能量方面不利的一个高能磷酸键形成。第 6 步，C—H 键氧化能量驱动 NADH 和一个高能磷酸键的形成。第 7 步高能键断裂驱动 ATP 形成。

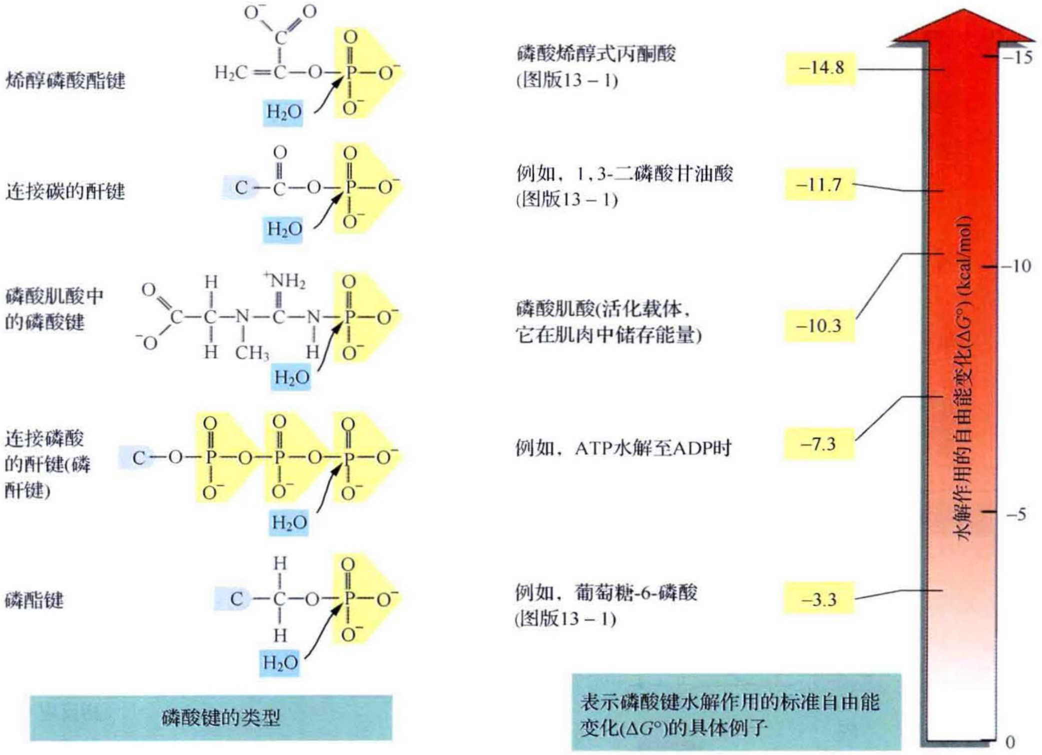


图 13-7 不同磷酸键之间的键能差别使 ATP 可以通过底物水平磷酸化形成。图的左面举例描述不同类型的磷酸键和水解位点。那些以灰色阴影标注的碳原子开头的分子式表示这只是某分子的一个部分。右边举例描述包含这些磷酸键的分子水解的自由能变化，用 kcal/mol(1 kcal=4.184 kJ)表示。倘若分子 1 中磷酸键水解的标准自由能变化($\Delta G°$)比在分子 2 中的更负，则由任一分子 1 转移一个磷酸基团至分子 2 在能量方面是有利的。因此，一个磷酸基容易从 1,3-二磷酸甘油转移到 ADP，形成 ATP。注意这种水解反应可被看成这个磷酸基转移至水。

13.1.5 糖与脂肪都在线粒体中分解为乙酰 CoA

在真核细胞的有氧代谢中，糖酵解产生的丙酮酸被泵入到线粒体这一细胞器的主要内部成分——基质中(图 14-12)。在那里，丙酮酸被一个巨大的三酶复合物迅速地脱去羧基，这个酶复合物称为丙酮酸脱氢酶复合物。丙酮酸脱氢作用的产物是一个 CO_2 分子(一种废物)、一个 NADH 分子及乙酰 CoA。图 13-8 表示丙酮酸脱氢的结构及作用。

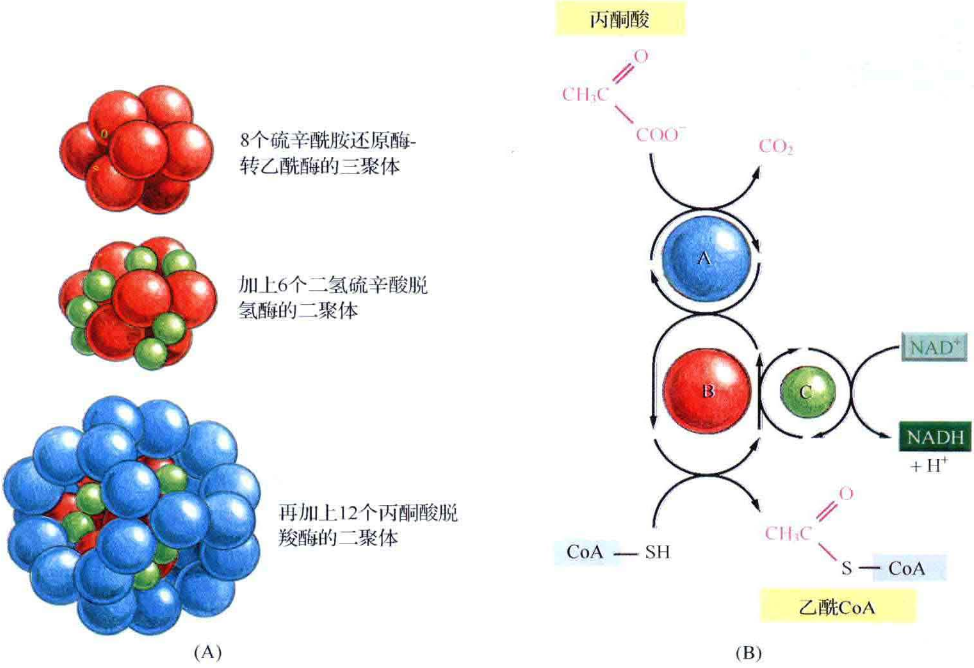


图 13-8 丙酮酸通过丙酮酸脱氢酶氧化产生乙酰 CoA 及 CO_2。(A)丙酮酸脱氢酶复合物的结构，它含有 3 个不同的酶和 60 条多肽链。在这巨大的多酶复合物中，反应中间物从一个酶直接传到另一个酶。(B)这些反应由丙酮酸脱氢酶复合物催化进行。这种复合物在线粒体基质中将丙酮酸转变为乙酰 CoA；这一反应中也产生 NADH，A、B、C 分别是丙酮酸脱羧酶、硫辛酰胺还原酶-转乙酰酶、二氢硫辛酸脱氢酶，如(A)中所示；它们的活动是相联系着的。丙酮酸及其产物以红色表示。

来自于**脂肪**的脂肪酸可以作为糖产能的替代燃料。如糖酵解得到丙酮酸那样，脂肪酸在线粒体内被转化成乙酰 CoA。每一个脂肪酸的长分子(以活化分子脂酰 CoA 的形式)通过一个反应循环而完全被分解掉，这个循环从羧基端一次剪掉两个碳原子，每一轮循环产生一个乙酰 CoA 分子。在这个过程中还产生一个 NADH 分子及一个 $FADH_2$ 分子——另一种电子载体(图 13-9)。

糖及脂肪为大多数非光合生物包括人类提供主要能源。在产生乙酰 CoA 的过程中，食物中只有一小部分有用的能量被抽取出来并储存于 ATP 或 NADH。大部分能量仍旧锁定在乙酰 CoA 中。呼吸作用的下一个步骤，也就是柠檬酸循环中乙酰 CoA 中的乙酰基被氧化成 CO_2 与 H_2O，因此柠檬酸循环对于需氧生物的能量代谢很重要。真核生物的柠檬酸循环发生在线粒体中，丙酮酸与脂肪酸被用来最终产生乙酰 CoA(图 13-10)。

除了丙酮酸和脂肪酸，一些氨基酸也从细胞质被转运到线粒体，进而被转变成乙酰 CoA 或柠檬酸循环中间体的其中一个(图 13-2)。因此，无论是始于糖、脂肪还是蛋白质，线粒体是真核细胞中所有产能过程所通往的中心场所。在真核细菌中没有线粒体，所有这些反应——糖酵解、合成乙酰 CoA 和柠檬酸循环都发生在细胞质这一组分中。

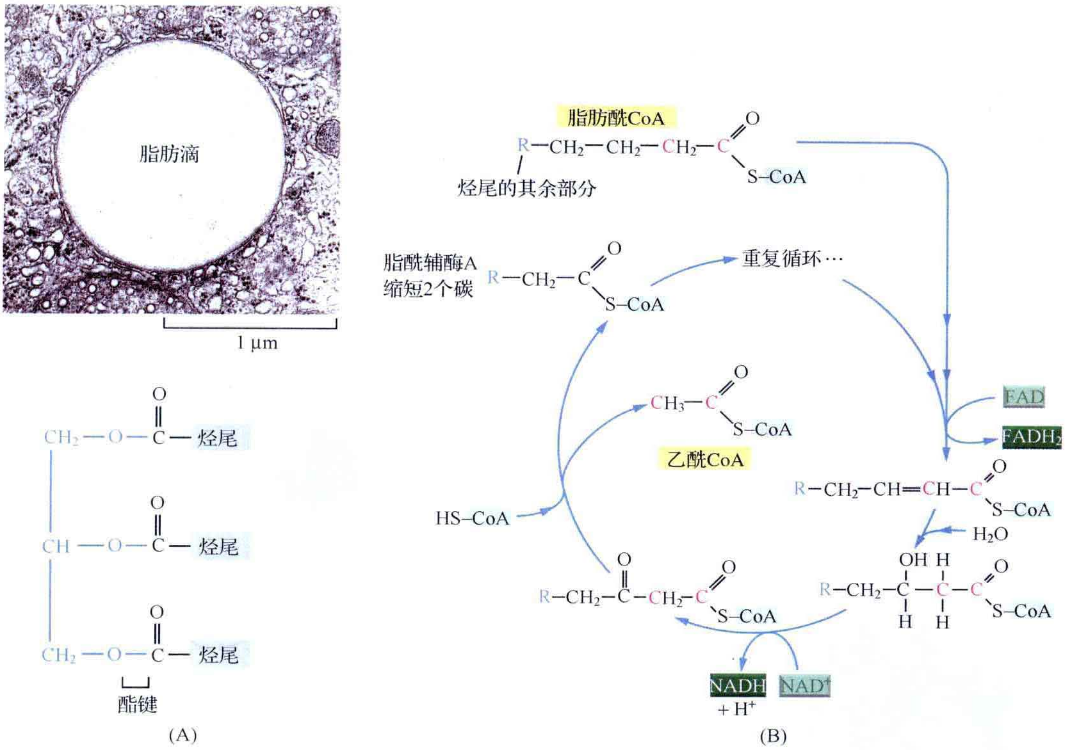


图 13-9 脂肪酸也被氧化为乙酰 CoA。(A)细胞质中一个脂滴的电子显微镜照片(上部),以及脂肪的结构(下部)。脂肪是三酰甘油,这里甘油部分用蓝色表示,三个脂肪酸经酯键与甘油连接。脂肪不溶于水并且在特化的脂肪细胞(称为 adipocyte)中形成大的脂肪滴,脂肪储存在这种细胞中。(B)脂肪酸氧化循环。这个循环由线粒体中的 4 个酶所催化。在每一次循环中脂肪酸链缩短二个碳原子(以红色表示),并产生一个乙酰 CoA 分子、一个 NADH 分子和一个 $FADH_2$ 分子。(A 蒙 Daniel S. Friend 惠许)

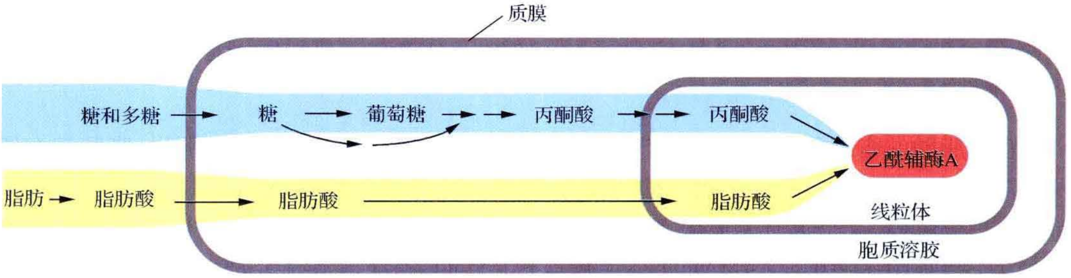


图 13-10 真核细胞中,来自糖和脂肪的分子在线粒体内产生乙酰 CoA。线粒体是细胞进行氧化反应以及制造大部分 ATP 的地方。

13.1.6 柠檬酸循环通过将乙酰基氧化为 CO_2 而产生 NADH

食物分子被氧化分解产生能量的第三个也是最后一个阶段需要大量的 O_2。虽然活的生物体在过去的 35 亿年间一直居住在地球上,但植物被认为在仅仅距今 10 亿～20 亿年前才产生了含氧大气层(图 14-43)。因此我们接下来讨论的耗氧反应似乎距现在更近的时候才产生。相比之下,图 13-5 所示用以产生 ATP 的机制不需要氧气,简单的偶联反应以及与此相关的物质可能在地球生命历史的很早期就已经发生。

在 19 世纪，生物学家注意到没有空气时(厌氧条件)细胞产生乳酸(如在肌肉中)或乙醇(如在酵母中)，而有空气时(有氧条件)这些细胞消耗 O_2 并产生 CO_2 及 H_2O。用于确定有氧代谢途径的大量研究工作最后集中在丙酮酸的氧化作用上，从而促使 1937 年发现**柠檬酸循环**，也称为三羧酸循环或 Krebs 循环(见“我们如何得知”)。大多数细胞中柠檬酸循环占了碳化合物氧化作用总体的大约 2/3，它的主要最终产物是 CO_2 及以 NADH 形式储存的高能电子。CO_2 是作为废物释放的，来自 NADH 的高能电子传递至一系列与膜结合着的酶——通称电子传递链。在电子传递链的尽头，这些电子与 O_2 结合产生 H_2O。虽然柠檬酸循环本身并不利用 O_2，但为了把反应进行下去它需要 O_2，因为没有别的有效办法可以使 NADH 放出电子并因此再生维持循环进行下去所需要的 NAD^+。

在线粒体基质中发生的柠檬酸循环促进乙酰 CoA 中乙酰基碳原子完全氧化，变为 CO_2。但是乙酰基不是直接被氧化的，而是从乙酰 CoA 转移至一个更大的四碳分子草酰乙酸，形成一个六碳的三羧酸——柠檬酸，接下去发生的反应循环以此命名。柠檬酸分子然后逐步被氧化，氧化作用的能量被用于产生高能载体分子，很像糖酵解中描述的情况。8 个反应串成的链形成一个循环，因为开始反应链的草酰乙酸在反应链末端被重新合成，如图 13-11 所示。

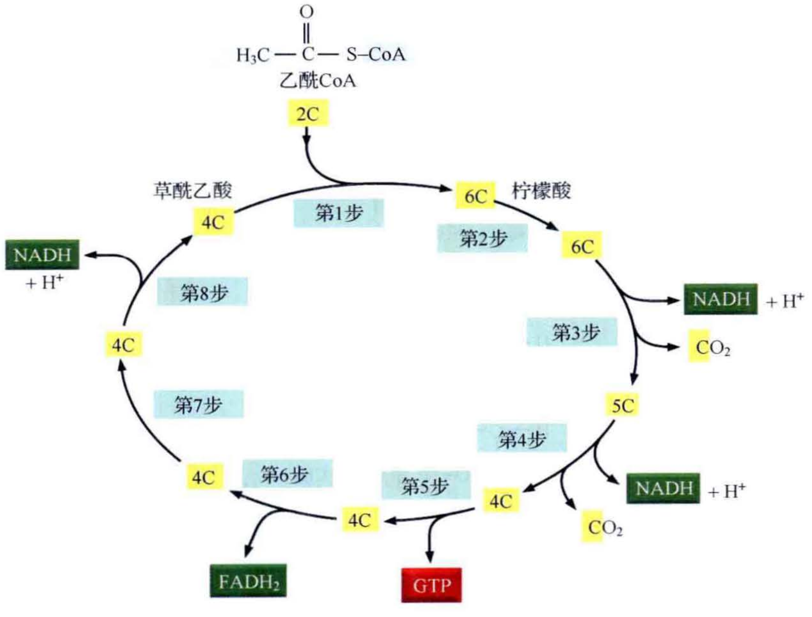
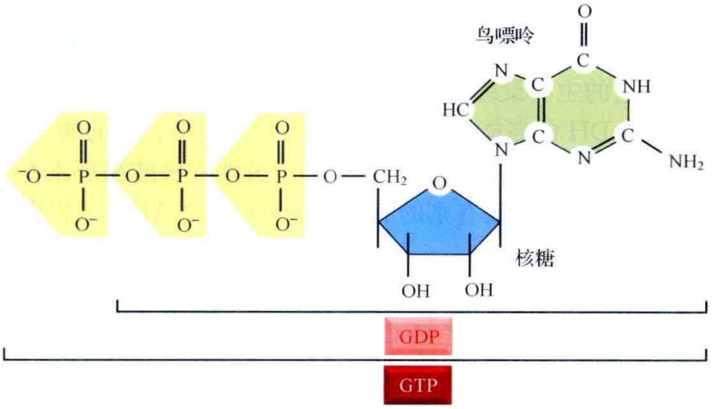


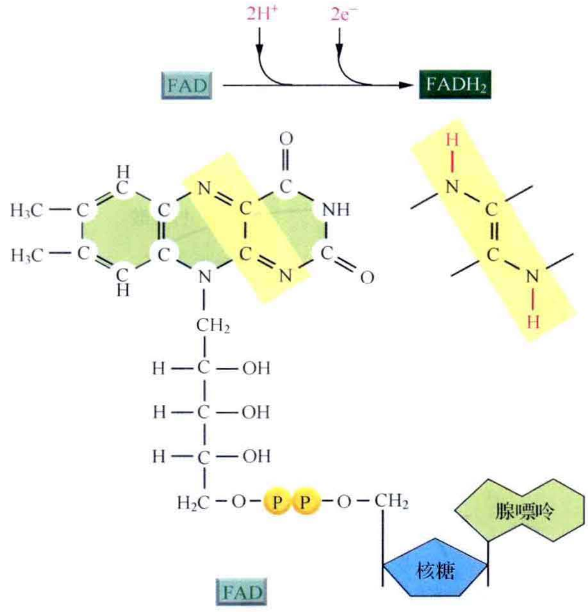
图 13-11　柠檬酸循环催化乙酰 CoA 内碳原子的完全氧化。乙酰 CoA 与草酰乙酸反应产生柠檬酸而开始这个循环。每一轮循环中，产生作为废物的 2 个分子的 CO_2，加上 3 个分子的 NADH、1 个分子的 GTP 及 1 个分子的 $FADH_2$。每个中间物的碳原子数表示在一个黄色的方框中(图版 13-2)。柠檬酸循环的全部步骤见视频 13.2。

至今我们只讨论了由柠檬酸循环产生的三类活化载体分子中的一种——NADH。除了 3 个 NADH 分子外，每一轮循环还从 FAD 产生一个 $\mathbf{FADH_2}$(还原的黄素腺嘌呤二核苷酸)分子，并从 GDP 产生一个核糖核苷酸 **GTP**(鸟苷三磷酸)分子(图 13-11)，这两种活化载体分子的结构如图 13-12 所示。GTP 是一个与 ATP 密切相关的成员，在每一轮循环中它末端的磷酸基团转移至 ADP，产生一个 ATP 分子。类似于 NADH，$FADH_2$ 是一个高能电子与氢的载体。就像我们简略讨论过的，储存在 NADH 及 $FADH_2$ 高能电子中的较容易传递的能量通过氧化磷

酸化作用被用于生产 ATP，这个过程发生在线粒体膜中。氧化磷酸化是食物氧化分解代谢中仅有的直接需要大气中气态氧(O_2)的一步。



(A)



(B)

图 13-12　每一轮柠檬酸循环的产物包括 1 个分子的 GTP 和 1 个分子的 $FADH_2$，图中显示 GTP 及 $FADH_2$ 的结构。(A)GTP 及 GDP 分别是 ATP 及 ADP 的“近亲”，它们唯一的区别是腺嘌呤(A)代替了鸟嘌呤(G)。(B)尽管结构上差异很大，$FADH_2$ 与 NADH 及 NADPH 类似，是氢及高能电子的一种载体。这里表示的是它的氧化形式(FAD)，以及携载氢的原子，着重以黄色表示。右边表示的是这些原子还原状态的简写式。

完整的柠檬酸循环列于图版 13-2。应该注意的是，从柠檬酸循环中的乙酰基制造出 CO_2 所需要的氧原子不是由 O_2 而是由水提供的。如在图版中所显示的，每个循环分解 3 个水分子，而其中一些水的氧原子最终被用于生成 CO_2。关于有氧呼吸的一个普遍的错误观点是：大气中的 O_2 在柠檬酸循环中被转变为 CO_2，然后作为废弃物排出。事实上如我们所见，气态 O_2 分子被还原成水，而不是被吸收直接变为 CO_2。

我们如何得知：发现柠檬酸循环

“经常有人问我，我是怎样发现继而研究柠檬酸循环的”，生化学家 Hans Krebs 在报告和综述文章中写道，这篇文章描述了处于细胞新陈代谢中心地位的柠檬酸循环的反应，由此 Hans Krebs 获得诺贝尔奖。柠檬酸循环的概念来源于突发的灵感，还是有启示的景象呢？“不是那样的”，Krebs 回答。他意识到这些循环发生的反应——而不是一系列线性轨迹——是一个“非常缓慢的进化过程”，在长达 5 年的时间内，Krebs 将洞察和推理与仔细的实验结合在一起，最终解释了构成细胞能量代谢基础的主要途径。

切碎的组织，奇妙的催化作用

20 世纪 30 年代早期，Krebs 和其他研究者已经发现了在许多种类的组织制品(肾或肝的切片，或鸽子肌肉切碎后制成的悬浮液)中特定的一群分子被极快速地氧化。由于这些反应依赖氧气，研究者们推测这一些的化合物分子可能包含了对细胞呼吸作用很重要的中间体——消耗 O_2 产生 CO_2 并伴随着食物的代谢作用。

通过对被切碎组织制品的观察，Krebs 和其他研究者有了以下发现。首先，在有氧的情况下，某些有机酸——柠檬酸、琥珀酸、延胡索酸和苹果酸，很容易被氧化成 CO_2。这些反应依赖于持续不断的氧气供应。

其次，这些化合物的氧化形成两条线性的，连续的通路：

柠檬酸→α-酮戊二酸→琥珀酸

以及

琥珀酸→延胡索酸→苹果酸→草酰乙酸

第三，当将小剂量的这些化合物加入切碎肌肉的悬浮液中后，反常地促使大量的氧气被吸收(远远多于仅仅氧化加入的化合物所需的氧气量)。为了解释这个惊人的发现，Albert Szent-Györgyi(诺贝尔奖获得者，发现了上述第二条通路)提出，每种化合物的单个分子必定以某种方式催化性地促使肌肉内一些内源物质分子氧化。

这时，柠檬酸循环中主要的大部分反应已经被弄明白了。还没有完全搞清楚甚至令未来的诺贝尔获奖者产生迷惑的是，这些明显是线性的反应如何能控制氧气的催化性消耗，其中每个代谢物分子消耗了更多分子的氧化。Krebs 最终解决了这个难题——把这些线性反应连成一个圆，为简化讨论，我们现在将涉及的一系列分子用字母 A～H 表示(图 13-13)。

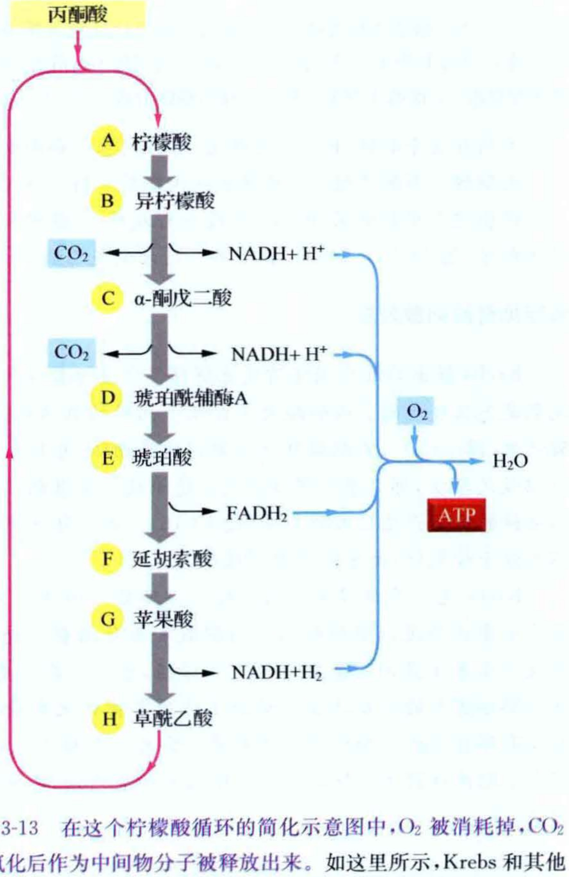
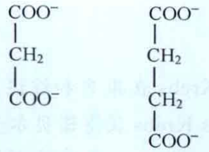


图 13-13　在这个柠檬酸循环的简化示意图中，O_2 被消耗掉，CO_2 被氧化后作为中间物分子被释放出来。如这里所示，Krebs 和其他科学家一开始没有意识到这些氧化反应以循环的方式发生。

一种有毒物质提示一个循环反应

Krebs 用以构建柠檬酸循环的许多线索来自那些利用丙二酸的实验。丙二酸是一种特异性抑制琥珀酸(又名丁二酸)脱氢酶的化合物，而琥珀酸脱氢酶能把分子 E 转变成 F。丙二酸结构上非常接近琥珀酸(E)(图 13-14)，并作为琥珀酸的竞争性酶抑制剂。由于在组织内加入丙二酸毒害呼吸作用，Krebs 推断琥珀酸脱氢酶(以及与此相连的整条通路)在细胞呼吸作用中必然起着重要的作用。



丙二酸　琥珀酸

图 13-14　丙二酸和琥珀酸的结构非常相似。

此后 Krebs 发现，当他把分子 A、B 或 C 加入到受丙二酸毒害的组织悬液中时，分子 E 增多并累积起来(图 13-15A)。这个发现加强了琥珀酸脱氢酶对于成功的呼吸作用的重要性。然而，Krebs 也发现当 F、G 或者 H 被加入到丙二酸毒害的肌肉时，分子 E 也一样开始累积(图 13-15B)。这一发现暗示着，必然存在着另外一套反应，可以将分子 F、G 和 H 转变为分子 E(已经知道 E 是 F、G 和 H 的前体，而不是它们反应的产物)。

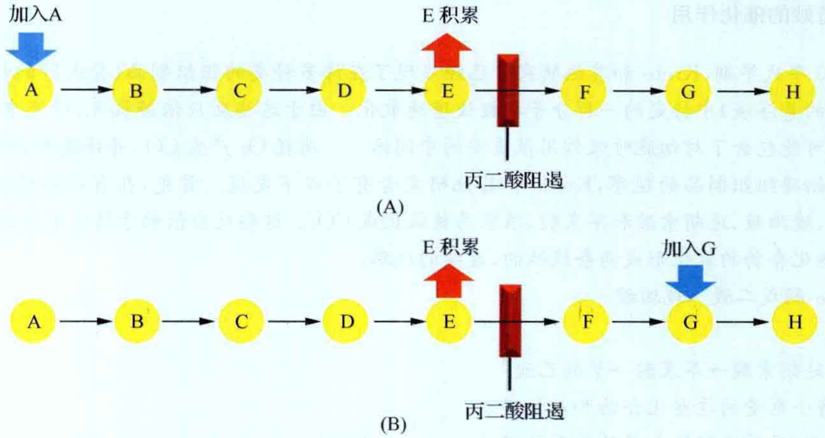


图 13-15　丙二酸毒害肌肉制备物现象为发现氧化反应为循环发生这一特性提供线索。(A)在丙二酸毒害的肌肉中加入 A,B 或 C 引起 E 积累。(B)加入 F,G 或 H 也引起丙二酸毒害的肌肉中 E 的积累，暗示着酶反应能够将这些分子转变成 E。发现柠檬酸(A)能够由草酰乙酸(H)和丙酮酸合成使 Krebs 将这两个反应通路并入一个完整的循环。

大约在这个时候，Krebs 也确定，当肌肉悬液和丙酮酸及草酰乙酸共培养时，形成了柠檬酸：

丙酮酸＋草酰乙酸⟶柠檬酸或丙酮酸＋H⟶A

根据这个观察结果，Krebs 假设当有氧时，丙酮酸和 H 浓缩形成 A，将前面描绘的一系列线性反应转变成循环顺序(图 13-13)。然而，在十年之后才发现乙酰 CoA 在这个反应内作为丙酮酸和草酰乙酸的中间体。

解释神奇的刺激效应

Krebs 提出的反应循环清楚地解释了少量添加任何 A 至 H 中间体而引起我们观察到的 O_2 大量吸收的现象是怎么发生的。丙酮酸大量存在于切碎的肌肉组织里，它很容易由储存的糖原得到的葡萄糖通过糖酵解产生(图 13-3)。丙酮酸氧化需要柠檬酸循环，并且每一轮循环反应氧化一个丙酮酸分子。若中间体 A 到 H 供量足够少，那么整个循环的反应速率就会受限制。增加这些中间体中的任何一种，都会对整个柠檬酸循环运转的速率产生巨大的影响(图 13-16)。因而每一种柠檬酸循环中间体的添加，我们都很容易看到许多丙酮酸分子被氧化，大量氧气被消耗掉。

Krebs 进一步证实他所假设反应循环的所有单个的酶反应都在组织制备物中发生。而且这些反应的反应速率之高足以解释组织中丙酮酸和氧气消耗的速率。Krebs 因此总结说，至少在肌肉组织内，这系列的反应如果不是丙酮酸氧化的唯一途径，也必定是主要途径。像玩拼图游戏一样将零碎的信息组合起来，寻找那些丢失的连接，Krebs 得出了作为食物氧化基础的代谢进程的连贯的图画。值得称道的是，Krebs 是在没有那些现代生物化学家看来是必需的试剂和技术的帮助下，发现这一复杂的代谢通路的：像可在反应过程中追踪被标记化合物的放射性标记物和质谱法，即能快速鉴别通路中产生的各种化合物中间体的有力的方法。

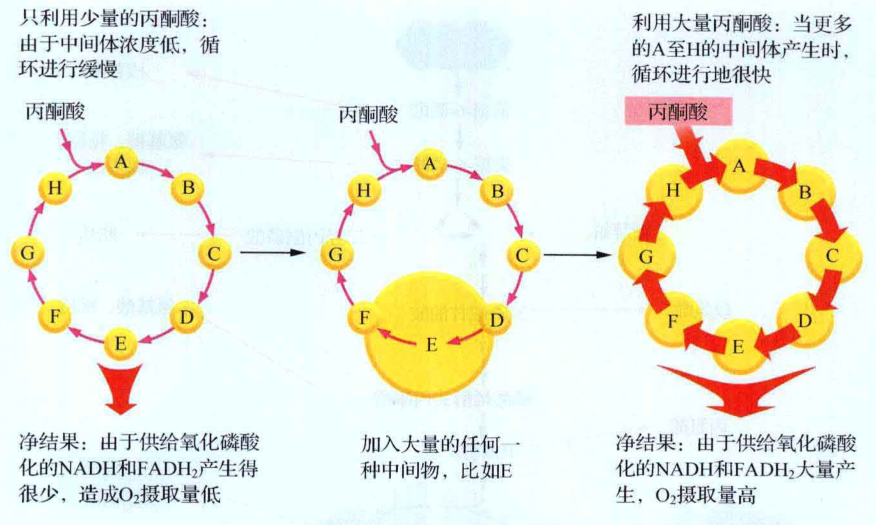


图 13-16　补充任何一种中间物的供应都会对柠檬酸循环的运行速率产生很大的影响。

13.1.7　许多生物合成途径从糖酵解或柠檬酸循环开始

分解代谢反应如糖酵解或柠檬酸循环既为细胞产生能量，又产生结构单元用于制造细胞的许多别的分子（图 3-2）。到现在为止，我们已经着重讨论了能量产生，而没有涉及生物合成起始材料的供应。但是糖酵解与柠檬酸循环中形成的许多中间体被生物合成，或合成代谢等途径吸取，它们被一系列酶催化的反应转化为氨基酸、核酸、脂肪和其他细胞所需的小的有机分子。例如，柠檬酸循环中的草酰乙酸和 α-酮戊二酸被重新从线粒体转运到细胞质，并作为许多重要分子如天冬氨酸和谷氨酸的前体。图 13-17 阐明了从中心代谢反应通向生物合成的一些分支反应，从中我们也能了解到这些代谢过程的复杂性。

13.1.8　在大多数细胞中电子传递驱动大部分 ATP 合成

我们现在回到食物分子氧化的最后一步，食物分子的大部分化学能在这里被释放。在这个最后的过程中，电子载体 NADH 和 $FADH_2$ 把它们在氧化别的分子时所得到的电子转移至**电子传递链**，这个电子载体的专门的传递链嵌入在真核细胞的线粒体的内膜中（或细菌的质膜内）。当电子沿着这条专门的电子受体及供体分子构成的长链传送时，其能态逐次降低。电子在此过程中释放的能量用于驱动 H^+（质子）跨膜——从线粒体内区室到外面（图 4-13），从而产生一个 H^+ 梯度。这个梯度起一个能源的作用，像一个电池，用于驱动各种需能反应（见第 12 章）。在线粒体中，其中最突出的反应是经 ADP 磷酸化作用而产生 ATP。

在这条电子传递链的末端，电子被传递至扩散进入线粒体的氧分子（O_2）；它同时与周围溶液中的质子（H^+）结合而产生水分子。现在这些电子已经处在最低能量水平，因此食物分子氧化产生的全部可用能量已经被提取。这个需要氧气产生 ATP 的过程称为**氧化磷酸化**（图 13-18）。氧化磷酸化发生于真核细胞的线粒体以及厌氧细菌的质膜中，它是细胞进化中最惊人的成就之一。正因如此，氧化磷酸化将在第 14 章重点讨论。

总之，一个葡萄糖分子氧化成 H_2O 和 CO_2 的这种完全氧化作用被细胞用于生产约 30 个 ATP 分子（关于这些 ATP 确切来源的阐述，见表 14-1）。相比之下，单靠糖酵解每个葡萄糖分子只产生 2 个 ATP 分子。

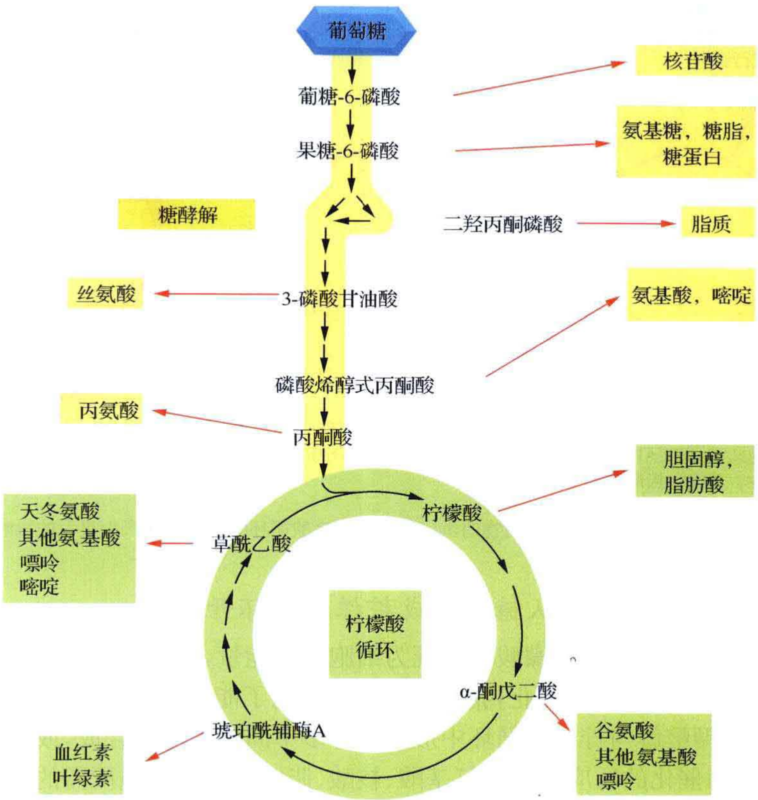


图 13-17 糖酵解和柠檬酸循环为许多重要生物分子的合成提供前体。氨基酸、核苷酸、脂质、糖及别的分子——这里表示为产物——本身又作为细胞的许多大分子的前体。图中每个黑箭头代表单个酶催化的反应；红箭头一般指有许多步骤的途径，这些步骤是为产生所列产物所需要的。

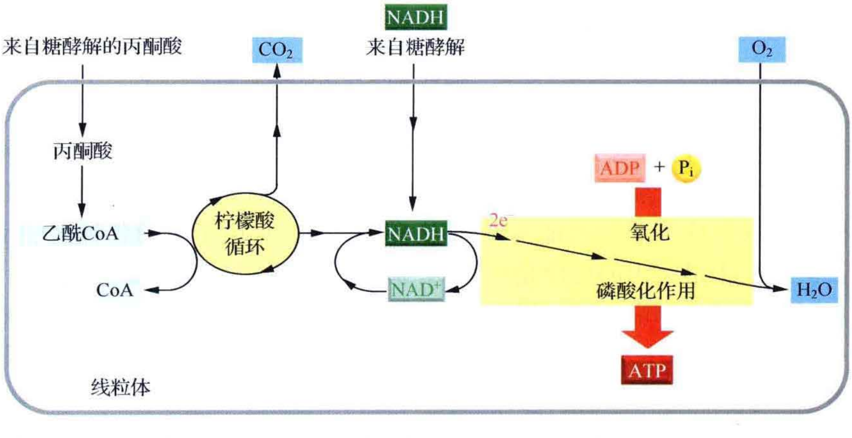


图 13-18 食物分子氧化作用的最后阶段，由柠檬酸循环产生的 NADH 及 $FADH_2$（未表示）贡献出高能电子，最终用于还原 O_2 产生水。在线粒体内膜中（或在细菌的质膜中）一个精巧的电子传递过程所释放能量的主要部分用于通过氧化磷酸化驱动 ATP 的合成。

13.2 代谢的调节

细胞是一个复杂的化学机器，我们集中于糖酵解和柠檬酸循环的代谢方面的讨论只是一个细胞内可在任何时候发生的许多酶反应中的一个极小部分(图 13-19)。为了使这些通路在一起顺利运行(这是细胞存活和响应周边环境的要求)，必须在每个通路分支点上严格调控每一种代谢物沿哪一条通路而行。

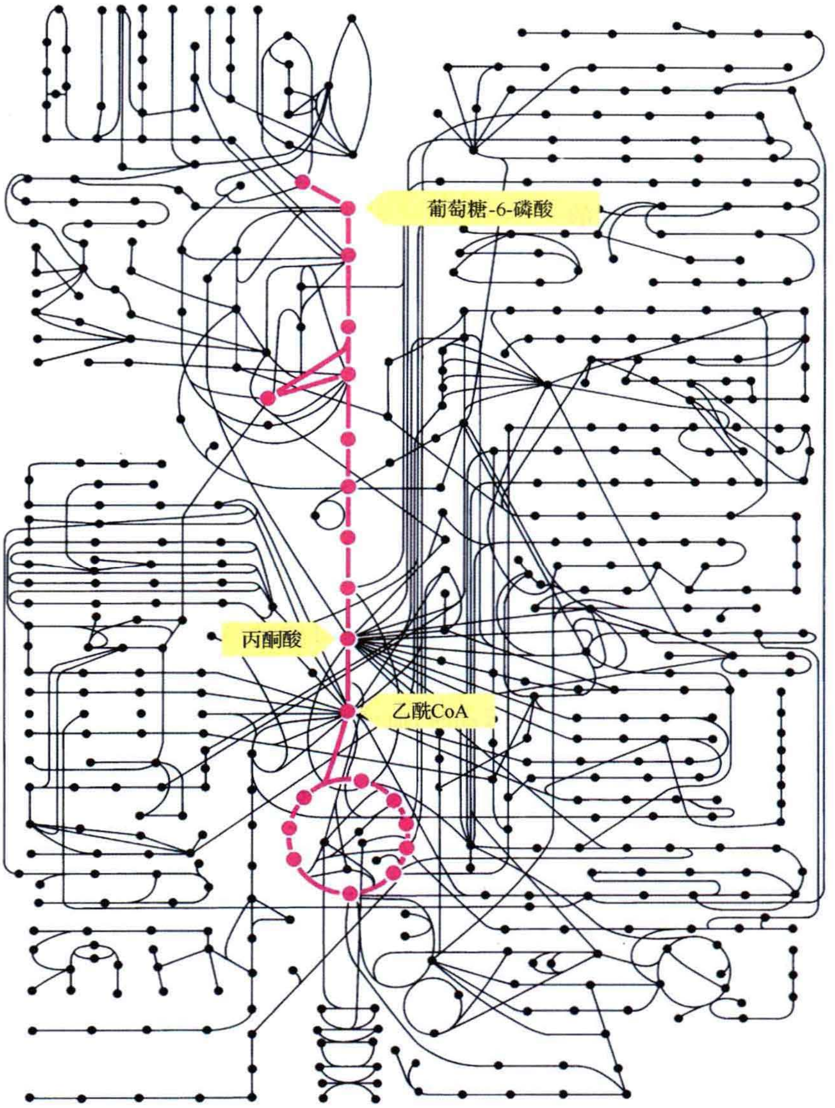


图 13-19 糖酵解及柠檬酸循环居于新陈代谢的中心。一个典型细胞的大约 500 个代谢反应的简图，糖酵解及柠檬酸循环以红色表示。别的反应或者通向这两个核心途径——给分解代谢提供小分子并产能，或者通向外面为生物合成提供碳化合物。实心圆代表不同代谢路径中的分子，连接它们的线代表将一个代谢物转化为另一个代谢物的酶反应。

需要被严格控制的反应有许多套。例如，要在一切生物的细胞中维持生物学有序性，就需要不断地通过氧化糖或者脂肪补充它们的 ATP 库。但是动物只是断续地取得食物，植物需要度过没有阳光的夜晚——在夜晚不可能通过光合作用产糖。植物和动物已经进化出多种方法

来解决这些问题。首先是当食物足够时合成营养物质储备，以便今后能量缺乏时消耗。因而，细胞必须控制好关键的代谢物是走向合成代谢还是分解代谢——换句话说，代谢物是用以构建其他的分子还是燃烧以提供直接的能量。在本节中，我们讨论细胞如何调节形成代谢基础的复杂的互相联系的通路。

13.2.1 合成代谢和分解代谢反应是有组织并受调控的

图 13-19 的所有反应发生在一个直径小于 0.1 mm 的细胞内，并且每一步反应需要不同的酶。更为复杂的是同一个分子经常参与着许多不同的通路。例如，丙酮酸是六种以上的酶的共同的底物，每一种酶以不同的方式对它进行化学修饰。如我们所见，丙酮酸脱氢酶将丙酮酸转化成乙酰 CoA，而乳酸脱氢酶将其转化成乳酸，第三个酶将丙酮酸变为草酰乙酸，第四个酶将其变为丙氨酸，等等。所有这些通路竞争同一个丙酮酸分子，而同一时间内有几千个小分子在引起这样类似的竞争。有人可能认为此系统如此精细平衡，以至于任何微小的扰乱，比如暂时的食物摄入的改变都会是灾难性的。

实际上，细胞的代谢平衡惊人地稳定。一旦平衡被扰乱，细胞就会为恢复到原始状态而作出反应：当发生饥饿或疾病时，细胞能够适应并持续行使功能。这种适应能力通过一个称为控制机制的精巧的网络系统得以实现，该网络利用酶来调节和协调细胞中许多代谢反应的速率。

就如我们在第 4 章所见，酶的活性可被不同的方式控制。许多蛋白质通过共价修饰（比如增加或转移一个磷酸基团）被打开或关闭（图 4-38）。或者，蛋白质的活性能通过结合一个小的调节分子（通常是一个代谢物）变成异构酶而被控制（见 5.3 节）。这种调节可以是正向的，即增加酶的活性，也可以是反向的，即抑制酶的活性。下面我们会看到，两种调节——正向和反向——都调控着糖酵解相关的关键酶的活性。

13.2.2 反馈调节使细胞从葡萄糖降解变为葡萄糖合成

身体需要持续的葡萄糖供应来满足代谢的需要。比如，大脑细胞几乎全靠葡萄糖进行呼吸作用。当人处于缺少食物或剧烈的体育运动时，血液中的葡萄糖消耗比合成快。补充血液中葡萄糖的一个途径是从小分子的非糖类有机分子合成，如乳酸、丙酮酸或者氨基酸。这个过程叫做**糖异生**。反馈调节的一种复杂形式是细胞从通过糖酵解降解葡萄糖转变为通过糖异生合成葡萄糖。

大多数与葡萄糖分解成丙酮酸相关的反应是可逆的。但是，图版 13-1 中反应当中的三步：步骤 1、3 和 10 是不可逆的。事实上，正是这些反应中发生的较大的负自由能改变驱动了葡萄糖的分解。对于反方向的路径——丙酮酸转为葡萄糖——则须绕开这三个反应。通过代替一系列可替换的，酶催化的，需要化学能输入的“旁路反应”（图 13-20 中的反应 A、B、C、D），迂回绕道的反应得以实现。与糖酵解中消耗一个葡萄糖总共产生 2 个分子的 ATP 相比较，糖异生中合成一分子葡萄糖的反应需要水解 4 分子的 ATP 和 2 分子的 GTP。

在人类和其他哺乳动物中，糖异生主要发生在肝脏细胞中，肝脏细胞能够利用许多不同的分子作为起始点来保持供应血中的葡萄糖。一个最普通的输入是乳糖：这种分子由过度工作的肌肉产生，肝脏吸取乳酸将其转化成葡萄糖以补充给缺乏葡萄糖的肌肉。糖酵解和糖异生之间的平衡必须被严密地调控，如此当能量储存减少时葡萄糖被快速分解；而当肝脏细胞有丙酮酸、柠檬酸或 ATP 等形式的能量储备时，葡萄糖被重新合成并输出到其他组织中。如果图 13-20 中正向和反向的反应都可在不受控的情况下进行，那么这二者就会使代谢来回穿梭进入无效循环，从而消耗大量能量并无故产生热量。

分解葡萄糖的关键控制点之一在糖酵解的第3步——于磷酸果糖激酶的作用下产生果糖-1,6-二磷酸。这是糖异生作用必须避开的反应之一(图13-20第3步或图版13-1)。磷酸果糖激酶被AMP、ADP和无机磷酸(ATP水解副产物)异构性激活;并且被ATP、柠檬酸和呼吸作用的替代性燃料如脂肪酸等异构性抑制,它可在葡萄糖不足时由储存的脂肪释放。因此,当能量储备较低并且ATP水解产物积累的时候,磷酸果糖激酶被活化且发生糖酵解。另外,当ATP或以柠檬酸和脂肪酸为代表的燃料来源充足的时候,磷酸果糖激酶被关闭,转向糖异生,最终食物分子储存起来。还有一个水平的调控是,催化反向反应的酶(果糖-1,6-二磷酸;见图13-20旁路反应B)被同一个分子调控但是朝向相反的方向。因而,当磷酸果糖激酶关闭的时候该酶被激活。这种协调的调节机制使细胞在变化的环境下能迅速作出反应并相应地调节自身的机制。

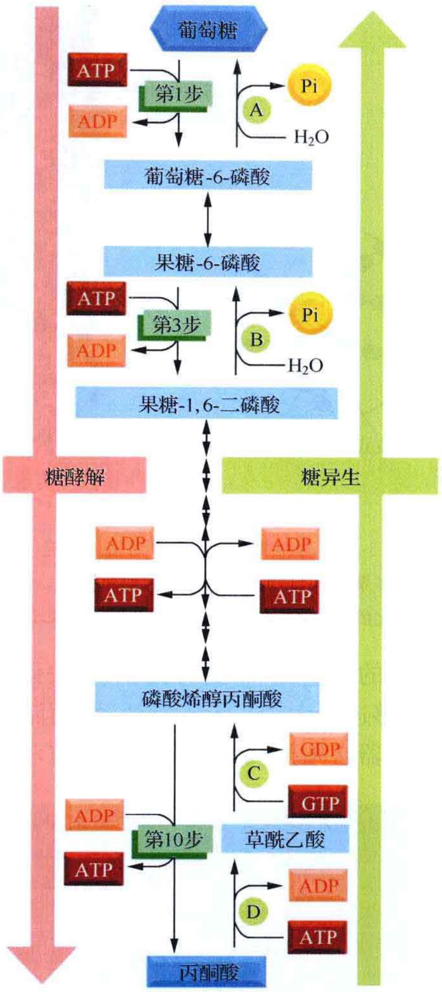


图13-20 **糖异生有效地"反转"糖酵解中发生的反应。**四个旁路反应(由A至D标注)用以绕开糖酵解中不可逆的步骤1、3和10。可以看到,糖异生合成反应的进行需要能量输入,而糖酵解作为一个整体是一套能量上有利的反应。为了追踪这些反应中能量是被产生还是消耗,请回想糖酵解中,果糖-1,6-二磷酸被拆分成两个3碳糖(没有显示)。因此,以上的所有反应中无论属于糖酵解还是糖异生,对于每个消耗或产生的葡萄糖分子都涉及两个糖,并且能量载体的数目也加倍。

13.2.3 细胞在特殊的存储器中储存食物分子以备需要

就像我们曾看到过的,糖异生的过程代价较高,因为它需要非常大量的ATP和GTP水解释放的能量。所以糖异生不能无限制地进行。为补偿长期缺食,动物把食物储存在它们的细胞内。葡萄糖以**糖原**(大分子的有分支的多糖)的亚单位储存,糖原在许多细胞包括肝细胞及肌细胞的胞质中以小颗粒存在(图13-21,图版2-3)。糖原的合成和降解的发生通过不同的代谢通路进行,并且能够根据需要被快速而协同地调节。当ATP的需要量大于从血流中取得之食物分子所能产生的量,细胞就会以一个产生葡萄糖-1-磷酸的反应分解糖原,再将其转变成葡萄糖-6-磷酸,从而为糖降解的通路提供原料。

糖原的合成以及降解通路由每个通路里的酶通过其自身被葡萄糖-6-磷酸异构性调节来协调,但是方向相反:合成通路上的糖原合成酶由葡萄糖-6-磷酸活化,而催化糖原分解的糖原磷酸化酶被葡萄糖-6-磷酸和ATP抑制。这种调节机制可以避免当ATP充足时发生糖原分解,而趋向于当葡萄糖-6-磷酸浓度高时合成糖原。糖原的合成和降解同样也受胞内信号通路的调控,而后者则受一些激素如胰岛素、肾上腺素和胰高血糖素调控(表16-1,图16-23)。

就量而论,脂肪是一种远比糖原重要的能量储存形式,部分原因是由于1 g脂肪氧化所释放的能量几乎是1 g糖原氧化所释放的约2倍之多。另外,糖原与大量的水结合,因此若储存

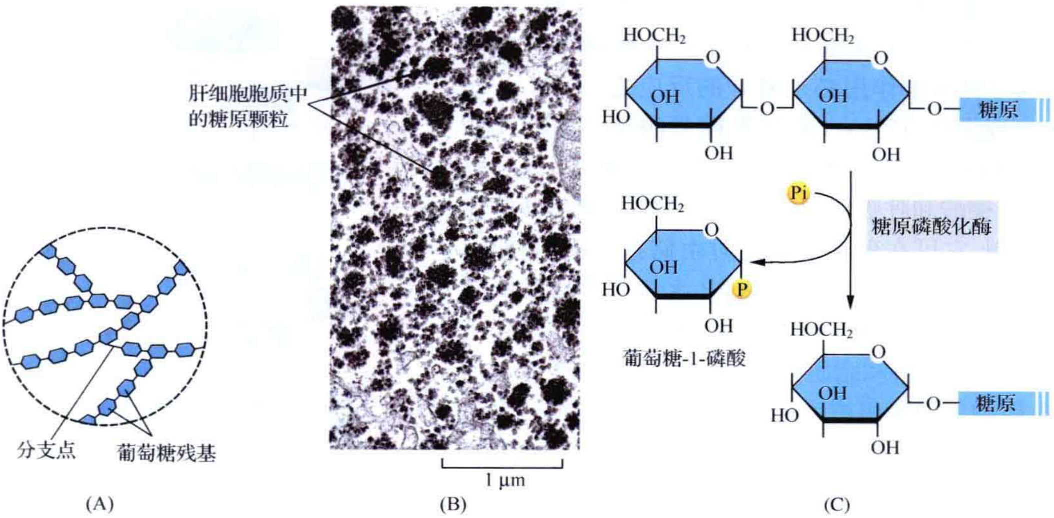


图 13-21 动物细胞储存糖原为禁食期提供能量。(A)糖原的结构(植物中的淀粉是和糖原很相近的分支的葡萄糖多聚物,但是淀粉的分支点比糖原少)。(B)电子显微镜照片显示一个肝脏细胞胞质内的糖原颗粒。(C)糖原磷酸化酶催化的反应。(B蒙 Robert Fletterick 和 Daniel S. Friend 惠许)

同样多的能量,所需要的糖原的实际质量与脂肪相比相差达 6 倍。一个普通成年人储存的糖原,仅够进行大约一天正常活动,而储存的足量脂肪可维持近一个月。如果我们身体的主要燃料存储器必须携载糖原而不是脂肪,那么体重将平均增加约 60 磅(近 30 kg)。

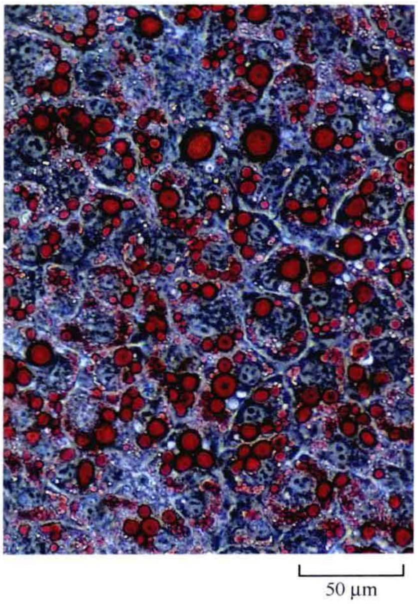


图 13-22 脂肪以脂滴的形式在动物细胞中积累。脂滴(染成红色)开始在一些发育着的脂肪细胞中积累。(蒙 Peter Tontonoz 和 Ronald M. Evans 惠许)

我们的脂肪大多以不溶于水的三酰甘油形式的脂滴储存在特化的脂肪细胞中(图 13-22,图版 2-4)。响应激素的信号,脂肪酸会从这些脂滴中被释放出来进入血液,按需要供其他的细胞使用。这种需求在个体一段时间未进食后上升;即使正常的夜间停食也会动用脂肪。早晨,进入柠檬酸循环的多数乙酰 CoA 来自脂肪酸而不是葡萄糖。而餐后,多数进入柠檬酸循环的乙酰 CoA 来自食物来源的葡萄糖,任何过量的葡萄糖都会被用来补充消耗掉的糖原储存或者用来合成脂肪(虽然动物细胞很容易将糖转为脂肪,但它们不能把脂肪酸转化成糖)。

动物和植物内的食物储备构成人类饮食的重要部分。植物将一部分光合作用合成的糖转化为脂肪和**淀粉**,即分支的葡萄糖多聚体,与动物体内的糖原相似。植物中的脂肪是三酰甘油,就像动物中的脂肪,而区别仅在于其中主要脂肪酸的类型。

植物种子里的胚必须依靠储存着的能源生活很长一段时间,直到它们发芽并长出能够采集太阳光能的叶。胚利用这些储存的能源作为它发育过程中能量的来源以及构成细胞壁和合成许多其他生物分子的来源。因此,植物的种子往往含有特别多的脂肪和淀粉,这一点使其成为动物和人类的主要食物来源(图 13-23)。发芽的种子当

需要葡萄糖时就把脂肪和淀粉转化为葡萄糖。

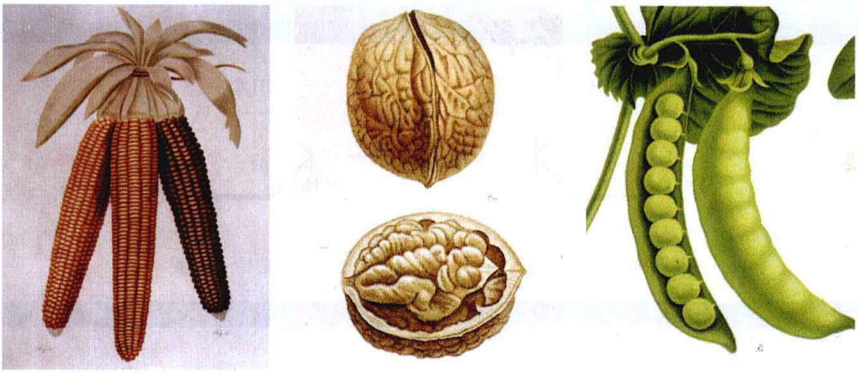


图 13-23　作为人类重要食物的一些植物种子。玉米、坚果和豌豆均储存有丰富的淀粉和脂肪，它们为种子内幼嫩的植物胚的生物合成作用提供能量和结构单元。（蒙 John Innes Foundation 惠许）

植物中的脂肪和淀粉储存在叶绿体中，叶绿体是植物细胞内进行光合作用的特化的细胞器（图 13-24）。同时叶绿体中的脂肪和淀粉作为食物储备在黑暗中用以产生 ATP。

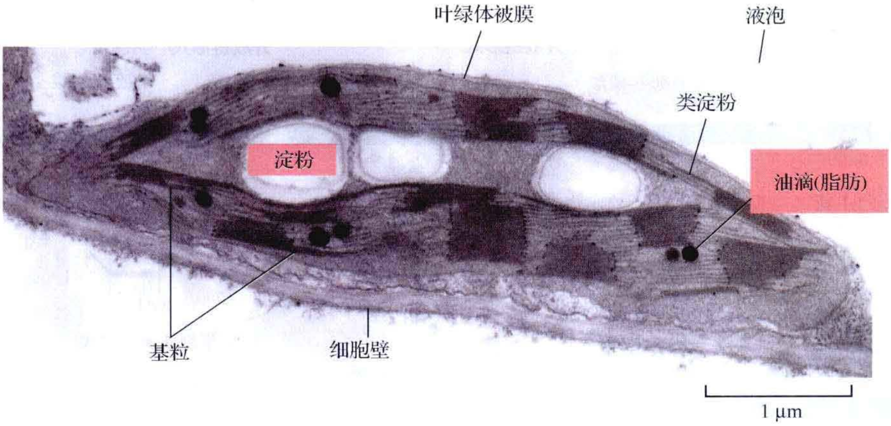
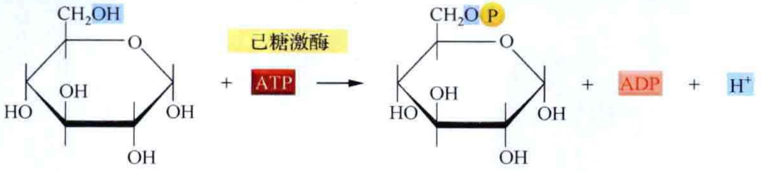


图 13-24　植物细胞在叶绿体内储存淀粉和脂肪。植物细胞的单个叶绿体的薄切片，显示淀粉粒与脂滴，它们作为在这里进行的生物合成作用的结果而累积起来。（蒙 K. Plaskitt 惠许）

图版13-1 详解糖酵解的10个步骤

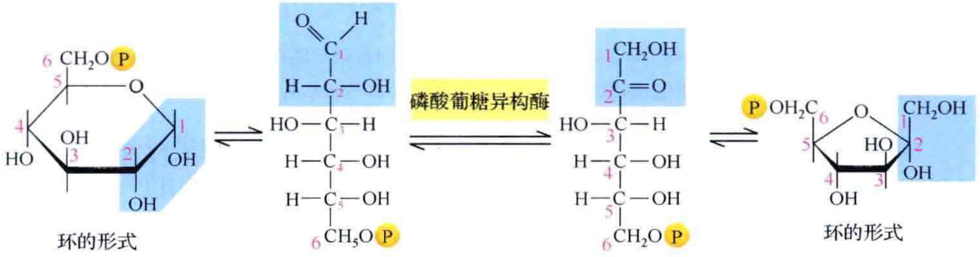
每一步骤中，分子内发生变化的部分用蓝色阴影覆盖，黄色框内表示催化反应的酶的名称。糖酵解反应的动画见视频13.1。

第1步 葡萄糖被ATP磷酸化后形成一个磷酸糖。磷酸上的负电荷防止磷酸糖穿过质膜，由此将葡萄糖限制在细胞内。



葡萄糖 葡萄糖-6-磷酸

第2步 一种可逆的化学结构重排(异构)将羰基氧从碳原子1移动到碳原子2，由醛糖形成酮糖(图版2-3)。



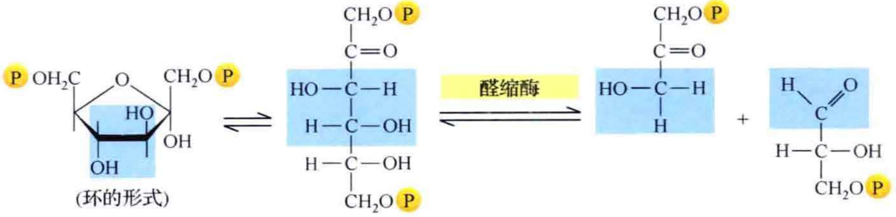
环的形式 开放链形式 开放链形式 环的形式

葡萄糖-6-磷酸 果糖-6-磷酸

第3步 碳原子1上新的羟基被ATP磷酸化，为形成两个三碳磷酸糖作准备。通过调节磷酸果糖激酶，这一步骤控制着糖进入糖酵解进程。

果糖-6-磷酸 果糖-1, 6-二磷酸

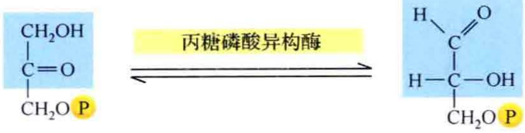
第4步 六碳糖被分成两个三碳糖分子。只有甘油醛-3-磷酸能立即在糖酵解中前进。



(环的形式) (开放链形式)

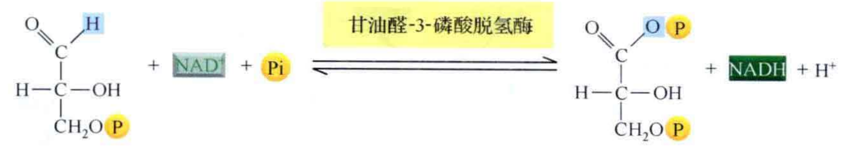
果糖-1, 6-二磷酸 二羟丙酮磷酸 甘油醛-3-磷酸

第5步 第4步中的另一产物磷酸二羟基丙酮经异构化形成甘油醛-3-磷酸。



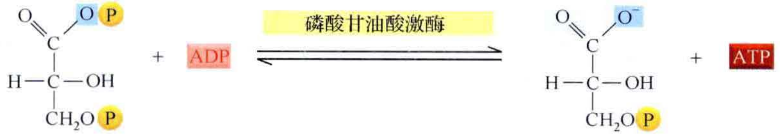
二羟丙酮磷酸 甘油醛-3-磷酸

第6步 两个分子的甘油醛-3-磷酸被氧化。糖酵解的产能阶段开始，因为NADH和一个新的与磷酸相连的高能酐键形成（图13-5）。



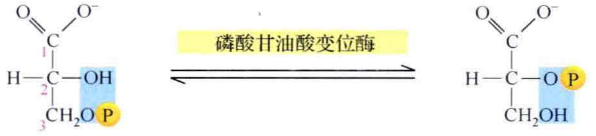
甘油醛-3-磷酸　　1, 3-二磷酸甘油酸

第7步 第6步引起高能磷酸键向ADP转移，形成ATP。



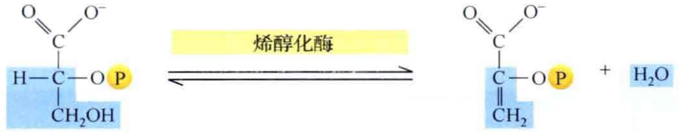
1, 3-二磷酸甘油酸　　3-磷酸甘油酸

第8步 3-磷酸甘油酸上剩余的水解自由能相对较低的磷酸酯键从碳原子3被转移到碳原子2，形成2-磷酸甘油酸。



3-磷酸甘油酸　　2-磷酸甘油酸

第9步 一分子水从2-磷酸甘油酸上移去形成一个高能烯醇磷酸键。

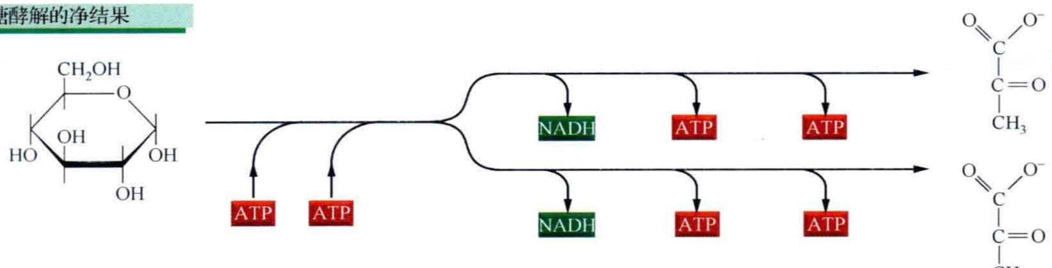


2-磷酸甘油酸　　磷酸烯醇式丙酮酸

第10步 第9步中产生的高能磷酸基团向ADP转移生成ATP，糖酵解完成。

磷酸烯醇式丙酮酸　　丙酮酸

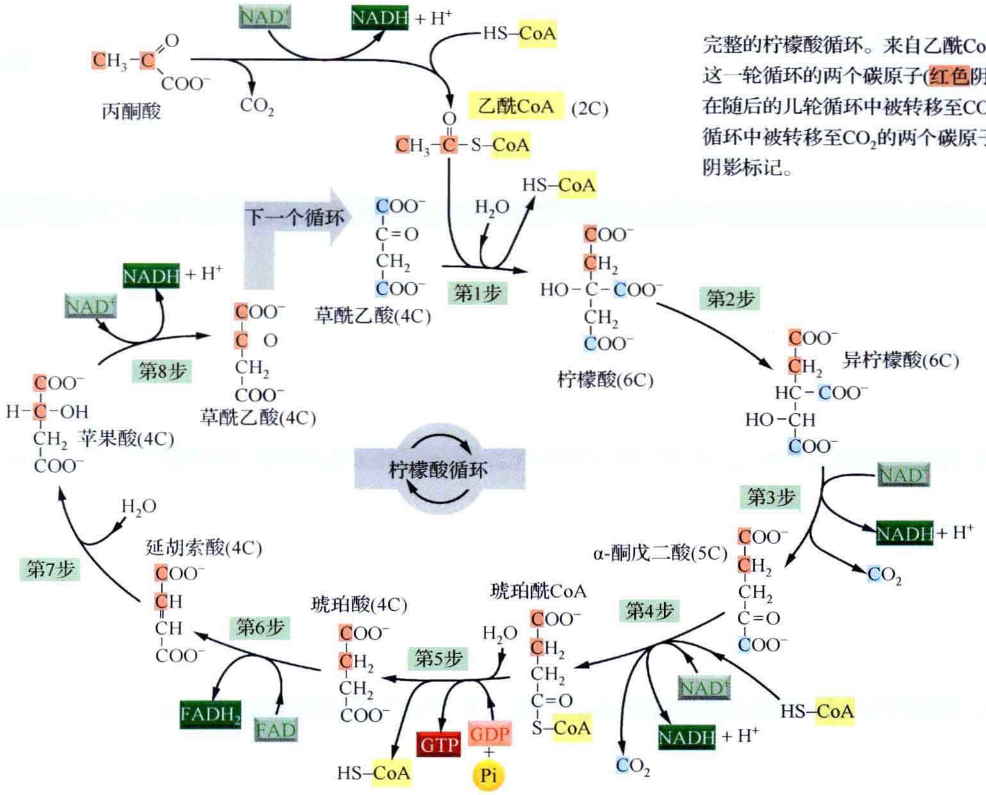
糖酵解的净结果



葡萄糖

除了丙酮酸，糖酵解的净产物是两分子的ATP和两分子的NADH。

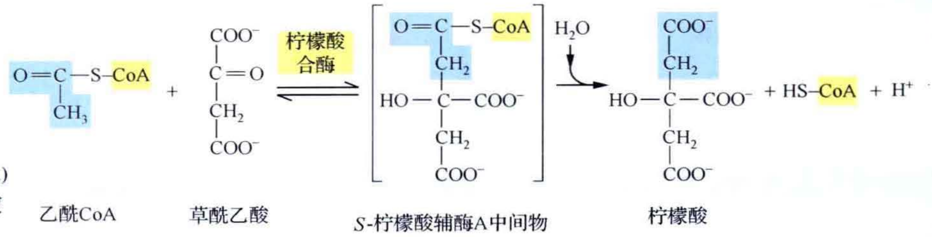
2个丙酮酸分子



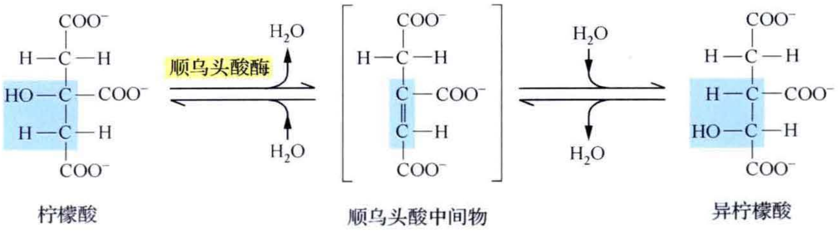
完整的柠檬酸循环。来自乙酰CoA并进入这一轮循环的两个碳原子(红色阴影标记)在随后的几轮循环中被转移至CO_2；本轮循环中被转移至CO_2的两个碳原子用蓝色阴影标记。

以下是柠檬酸循环的八个步骤的详细情况。图版这部分的每一步骤中，分子内发生变化的部分用蓝色阴影覆盖，黄色框内表示催化反应的酶的名称。柠檬酸循环反应的动画见视频13.2。

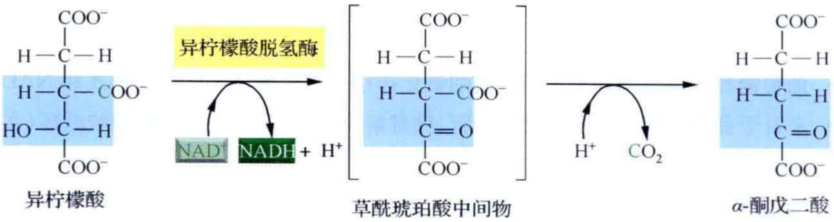
第1步 在酶的作用下，乙酰CoA的—CH_3基团被移去一个质子，带负电荷的CH_2^-和草酰乙酸的羰基碳形成一个键。后续由于辅酶A(CoA)水解引起的损失大力驱使反应向前进行。



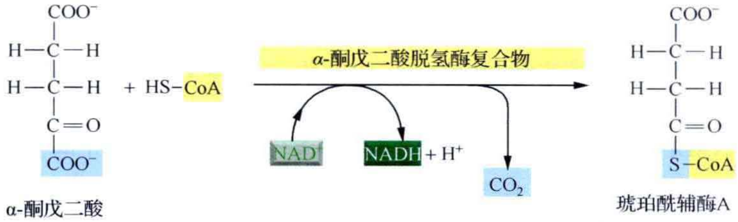
第2步 异构反应首先将一分子水移去，然后再重新加上一分子水，羟基从一个碳原子转移到了相邻的碳原子上。



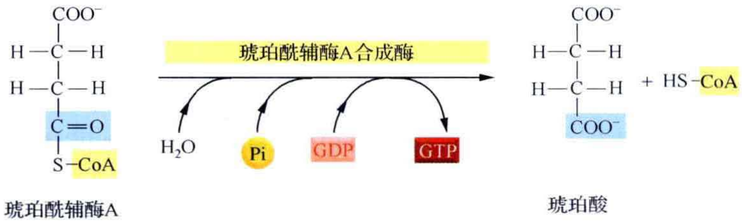
第3步 柠檬酸循环的四个氧化步骤中的第一个反应中，携带羟基的碳原子被转变为羰基。其直接产物不稳定，尚与酶相连的时候就失去一份CO_2。



第4步 α-酮戊二酸脱氢酶复合物与将丙酮酸转变为乙酰CoA的大型酶复合物(丙酮酸脱氢酶)很相似。它也催化一个产生NADH、CO_2和辅酶A(CoA)高能硫酯键的氧化反应。

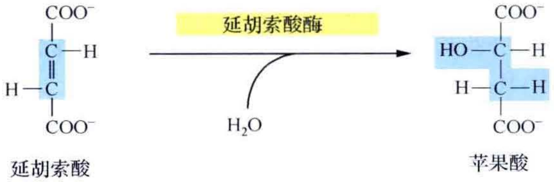


第5步 溶液中的磷酸分子将CoA转移并与琥珀酸形成一个高能磷酸连接。此后这个磷酸被转至GDP形成GTP。(在细菌和植物中此步形成ATP。)

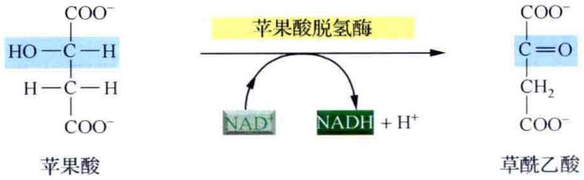


第6步 在循环的第三个步骤，FAD从琥珀酸移走两个氢原子。

第7步 延胡索酸与水反应，在羰基碳旁边引入一个羟基。



第8步 循环中四个氧化步骤的最后一步，即携带羟基的碳原子转变为一个羰基，此步重新合成了第1步需要的草酰乙酸。



基本概念

- 葡萄糖和其他食物分子被受控制的氧化作用逐步分解，提供 ATP 形式和 NADH 形式的化学能。
- 来自于食物的糖由不同的反应分解：糖酵解（在细胞质中进行），柠檬酸循环（在线粒体基质中进行），氧化磷酸化作用（在线粒体内膜上进行）。
- 糖酵解反应把葡萄糖（六碳糖）分解为两个分子的丙酮酸（三碳糖），产生少量的 ATP 和 NADH 分子。
- 氧存在时，丙酮酸转变成乙酰 CoA 和 CO_2。柠檬酸循环随后将乙酰 CoA 中的乙酰基转移至 CO_2 和 H_2O。这些氧化反应中释放的许多氧化能以高能电子形式储存在载体 NADH 和 $FADH_2$ 中。真核细胞中所有的这些反应在线粒体中进行。
- 食物中其他主要能源是脂肪。由消化脂肪产生的脂肪酸输入到线粒体中，并氧化为乙酰 CoA 分子，这些乙酰 CoA 分子进一步通过柠檬酸循环被氧化并产生 NADH 和 $FADH_2$，就像从丙酮酸衍生乙酰 CoA 一样。
- NADH 和 $FADH_2$ 将它们携载的电子传递至线粒体内膜的一个电子传递链，在那里通过一系列的电子传递以驱动 ATP 合成。食物分子分解时捕获的大部分能量在这个氧化磷酸化过程中被收集（第 14 章详述）。
- 我们摄入的食物不仅是代谢能量的来源，也是生物合成的原材料。柠檬酸循环和糖酵解的许多中间体是合成细胞中蛋白质，核酸和其他特殊分子的代谢途径的出发点。
- 一个细胞中同时进行着的数以千计的不同反应是密切协调的，这使细胞能适应各种不同的外部环境并始终能行使其功能。
- 在缺少食物的时期，调节一些关键的酶的活力使细胞从分解葡萄糖转向合成葡萄糖（糖异生）。
- 细胞把食物分子存储在特殊的存储器中。葡萄糖亚基在动物中以糖原形式、在植物中以淀粉形式储存。动物和植物以脂肪形式储存脂肪酸，植物产生的食物库是动物（包括我们人类）的主要食物来源。

关键词

ADP，ATP	丙酮酸	分解代谢	糖异生	脂肪
FAD，$FADH_2$	电子传递链	柠檬酸循环	糖原	
GDP，GTP	淀粉	葡萄糖	氧化磷酸化	
NAD^+，NADH	发酵	糖酵解	乙酰 CoA	

问题

问题 13-1 初看上去，发酵的最后一步似乎不是必需的：产生乳酸或乙醇并不为细胞生成任何附加的能量。解释在无氧条件下生长的细胞为什么不能简单地把丙酮酸作为废物摒弃掉。从葡萄糖衍生而来的什么产物会积累在细胞中，且不能经发酵作用产生乳酸或乙醇？

问题 13-2 砷酸盐（AsO_4^{3-}）在化学上与磷酸盐（PO_4^{3-}）很相似，并且被用作许多需磷酸盐的酶的底物替代品。然而，与磷酸盐相反，砷酸与碳之间的酐键在水中很快水解。知道了这一点，请指出为什么砷酸盐是杀人凶手而不是细胞要选择的化合物。根据图 13-6 中的情况简明陈述你的解释。

问题 13-3 许多分解代谢及合成代谢反应以那些相似但方向相反的反应为基础，见图 3-38 中的水解反应与缩合反应。脂肪酸的分解与脂肪酸的合成便是如此。据你从图 13-9 的简述所知道的脂肪酸分解机制，你认为细胞中最常见的脂肪酸的碳原子数是奇数还是偶数？

问题 13-4 注意图版 13-2 中详述的化学原理，你为什么推测，在将这两个碳完全氧化为 CO_2 之前，首先将乙酰基连接至另一个碳骨架草酰乙酸上是有用的？

问题 13-5 假如有错的话，下面这个陈述错在哪里："动物细胞中葡萄糖氧化期间被消耗的氧以 CO_2 的一部分返回到大气中。"你如何用实验支持你的答案。

问题 13-6 一个循环反应路径要求起始的物质必须在每一个循环的末尾被再生并利用。若柠檬酸循环中的化合物被抽走用作多种代谢反应的结构单元，那么为何柠檬酸反应不会很快停下来？

问题 13-7 看了糖及脂肪酸的结构以后（第 2 章已讨论），请给出一个直觉的解释，为什么一个糖的氧化所产的能量仅约为相等于质量的一种脂肪酸氧化作用所产能量的一半。

问题 13-8 细胞氧化糖分子按下列总反应进行：$C_6H_{12}O_6+6O_2 \longrightarrow 6CO_2+6H_2O+$能量。下列陈述哪一个是正确的？解释你的答案。

A. 产生的全部能量都是热的形式。

B. 产生的能量没有热的形式。

C. 由碳原子的氧化作用产生能量。

D. 上述反应为细胞提供必需的水。

E. 在细胞内这个反应以多个步骤进行。

F. 在糖分子的氧化作用中许多步骤涉及与氧气的反应。

G. 有些生物进行这个反应的逆反应。

H. 有些细胞能在无氧条件下生长并且产生 CO_2。

问题 13-9 一台极其灵敏的仪器（尚待设计）检出查尔斯·达尔文最后呼气中的一个碳原子驻留在你的血流中，它在那里构成血红蛋白分子的一部分。试述这个碳原子如何会从达尔文传递给你的，并列出可以进入这条路线的一些分子。

问题 13-10 酵母细胞既可以在有 O_2 时（需氧地）生长，也可以在无氧时（厌氧地）生长。你期望这两个条件中的哪一个会让这些细胞长得更好一些？解释你的答案。

问题 13-11 运动时，肌细胞需要大量 ATP 作为它们的收缩器的燃料。这些细胞有高含量的磷酸肌酸（如图 13-7 所示），为什么这是一种储存能量的有用的化合物？用图 13-7 中的知识证明你的答案。

问题 13-12 已发现从细菌到人的大多数活的细胞中组成糖酵解的复杂反应序列都是相同的，如图版 13-1 所示。然而，可以想象还可能有无数其他的化学反应机制使糖分子的氧化作用得以进行，并且按理它们已经能够进化到可以代替糖酵解。从进化角度讨论这一事实。

问题 13-13 假设一个动物细胞是边长为 10 mm 的立方体。这个细胞含有 10^9 个 ATP 分子，在 1 min 内全部用完。通过氧化葡萄糖分子再生 ATP。经过多长时间细胞用掉的氧气量等于它自己的体积？（回想一下 1 mol 有 6×10^{23} 个分子。1 mol 气体的体积为 22.4 L）。

问题 13-14 在细胞内的条件下，糖酵解最初几步反应的自由能（在图版 4-1 中）是

步骤 1　$\Delta G=-8.0$ kcal/mol（-33.4 kJ/mol）

步骤 2　$\Delta G=-0.6$ kcal/mol（-2.5 kJ/mol）

步骤 3　$\Delta G=-5.3$ kcal/mol（-22.2 kJ/mol）

步骤 4　$\Delta G=-0.3$ kcal/mol（-1.3 kJ/mol）

这些反应在能量方面是有利的吗？用这些数据按比例（A）为总反应画出一个能量图，（B）为这 4 个反应组成的途径画出一个能量图。

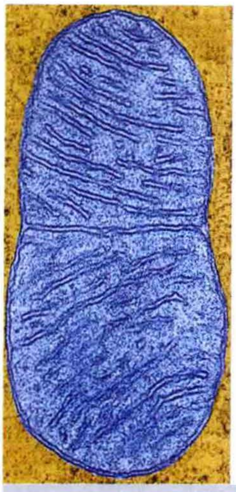
问题 13-15 大多数代谢反应的化学本质，是用含有不同于自然存在的各种同位素原子的合成代谢物揭示出来的。从同位素标记的代谢物开始的反应的产物可加以分析，精确测定产物中的哪个原子来自起始物质的哪个原子。这些检测方法利用这样的事实，即各种质量不同的同位素可用生物物理技术如质谱法加以区分。另外，有些同位素是放射性的，因此用电子计数器或被辐射曝光的照相胶片即可容易予以辨认。

A. 假设羧基中含有放射性 ^{14}C 的丙酮酸被加至一个能支持氧化磷酸化反应的细胞提取物中，产生的哪一个分子其中会含有绝大多数的这种加入的 ^{14}C？

B. 假设在酮基中含有 ^{14}C 的草酰乙酸（图版 13-2）被加至这个提取物中，经过一轮循环后 ^{14}C 会在哪里？

问题 13-16 在既能有氧生长又能厌氧生长的细胞中，O_2 存在时抑制发酵。试述产生这个观察结果的原因。

（徐　兰　译）



14 线粒体和叶绿体中的能量生产

14.1 线粒体和氧化磷酸化
14.2 电子传递与质子泵送的分子机制
14.3 叶绿体与光合作用
14.4 线粒体和叶绿体的起源

能量产生的基本需求对地球上生命发展的历史有着深远的影响。细胞和生物体的许多结构、功能和进化都与它们对能量的需求息息相关。最初，细胞可能是依赖某些无氧发酵的方式，通过分解早先地球化学过程中遗留下来的有机分子来产生 ATP。发酵反应发生在现存细胞的胞质溶胶内。正如第 13 章中所讨论的，这些反应利用富含能量的食物分子部分氧化所得的能量来形成 ATP，而 ATP 是细胞通用的化学能量。

但在生命历史的极早期，出现了更为高效的产生能量和合成 ATP 的方法。这个过程是基于电子沿着膜系统的传递进行。数十亿年之后，它对地球上现存的生命是如此之重要，以至于我们要用这整整一章来描述。正如我们将看到的那样，细胞利用这种基于膜系统的机制从广泛的来源获取能量。例如，这种机制对下面两个过程是极为重要的：把光能转化为化学键能的光合作用，以及使我们能利用氧气从食物中产生大量 ATP 的有氧呼吸作用。我们将要阐述的机制首先出现在 30 亿年以前的细菌中。这些早期的开拓者的后裔随后以极为多样的生命形式充满了陆地和海洋的每一个角落和缝隙，它们以叶绿体和线粒体的形式存在于所有的真核细胞中。

我们从哪里来以及我们与其他生物有什么关系，自历史上有记载的时候起，一直是令人着迷的问题。我们现在所描述的过程，是通过漫长的一系列科学研究才了解到的过程，是已知历史上最富戏剧性和最激动人心的事件之一。然而事情并未做完。每年，通过大大增加的分子探测工作而得到的新发现，都使我们了解细胞生物学更多的细节。

对生命进程极端重要的是向细胞提供丰富能源的能力。而在本章中，我们将讨论把所有这一切变成可能的重要机制。

细胞通过一种基于膜的机制获得其大部分能量

细胞内通用的主要化学能量物质是 ATP(图 3-32)。在真核细胞内，少量 ATP 在胞质溶胶内由糖酵解产生，但大部分 ATP 在线粒体内经氧化磷酸化产生(如第 13 章所述)。这种在线粒体中产生大量 ATP 的机制与糖酵解生产 ATP 的机制不同，膜系统参与了这个过程：氧化磷酸化依赖于线粒体膜上的电子传递以及跨膜离子运输。许多细菌的细胞膜内也有类似的过程。

用来制造所有这些 ATP 的基本过程，出现在生命发展史的极早时期，由于这种机制是如此的成功，以至其基本特征经过从早期的原核细胞到现代细胞的漫长进化历程而仍保持着。光合细菌、植物以及藻类的光合作用中都以类似的基于膜的过程产生 ATP。

这个过程包括两个相联系的阶段，均由埋在膜内的蛋白质复合物实现。

阶段Ⅰ 来自食物氧化(如第 13 章所述)或其他来源的电子(下文将要阐述)沿着一系列埋在膜内的称作**电子传递链**的电子载体传递。这些电子传递者释放能量用以把质子(H^+，取自细胞中无处不在的水)泵送过膜从而产生电化学质子梯度(图 14-1A)。如在第 12 章中所讨论的，跨膜离子梯度是能量储存的一种形式，当这些离子可以沿其电化学梯度而下跨膜回流时，这个能量可以被利用来做有用的功。

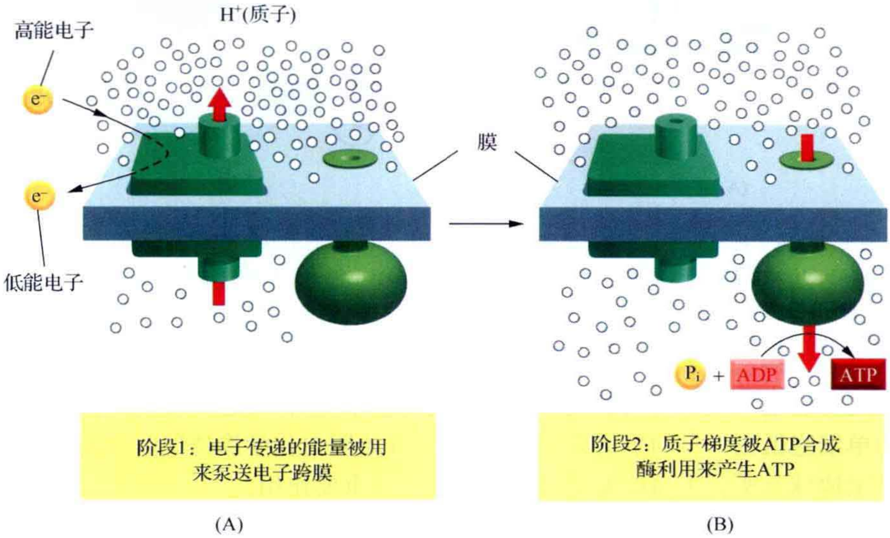


图 14-1 细胞进化出为生命提供所需能量的系统。(A) 这个过程的基本要求是一层膜，其上镶嵌有一个泵蛋白和 ATP 合成酶，以及高能电子(e^-)和质子(H^+)源。泵利用电子传递(图中未详细显示)的能量，泵送来自水的质子，建立跨膜质子梯度。高能电子可由有机或无机的分子提供，或者由光照在特定分子如叶绿素上的效应来提供。(B) 在(A)中产生的梯度作为一种通用的能量储备。在线粒体、叶绿体和细菌中——包括通过 ATP 合成酶合成 ATP，它被用来驱动一大类耗能反应。红色箭头表示各阶段质子运动的方向。

阶段Ⅱ H^+ 回流，通过一种称为 ATP 合成酶的蛋白质复合物，H^+ 顺其电化学梯度而下。这个复合物催化一种需能合成作用，利用 ADP 和无机磷酸盐(Pi)合成 ATP。这一普遍存在的酶起着涡轮机的作用，让质子梯度去驱动 ATP 的生产(图 14-1B)。

20 世纪 60 年代首次提出来时，把电子传递、质子泵送和 ATP 合成的关联称作化学渗透假说。之所以起这个名字是因为 ATP 合成中化学键形成反应(chemi)和膜转运过程(osmotic，渗透，源自希腊文的 *osmos*，“推”)之间的联系。现在称为**化学渗透偶联**。化学渗透机制使得细胞能够如同使用储存于电池中的能量一般利用电子转移产生的能量做有用功(图 14-2)。

化学渗透偶联首先在细菌中演化。这可能并不令人惊讶，因为好氧真核细胞看来是首先通过吞入需氧细菌形成线粒体，并沿用原封不动的细菌化学渗透机制，稍后(在进化为藻类和植物的谱系中)通过吞入蓝细菌形成叶绿体，这已在第 1 章中讲过了(图 1-19，图 1-21)。

本章中我们将考虑在线粒体和叶绿体内能量的产生，着重于在这些细胞器及细菌质膜中质子梯度的产生和利用的一般原则。我们从描述线粒体的结构和功能开始，回顾发生在线粒体膜上质子梯度的产生和 ATP 生产的详情，然后考虑发生在植物细胞叶绿体中的光合作用。最后，

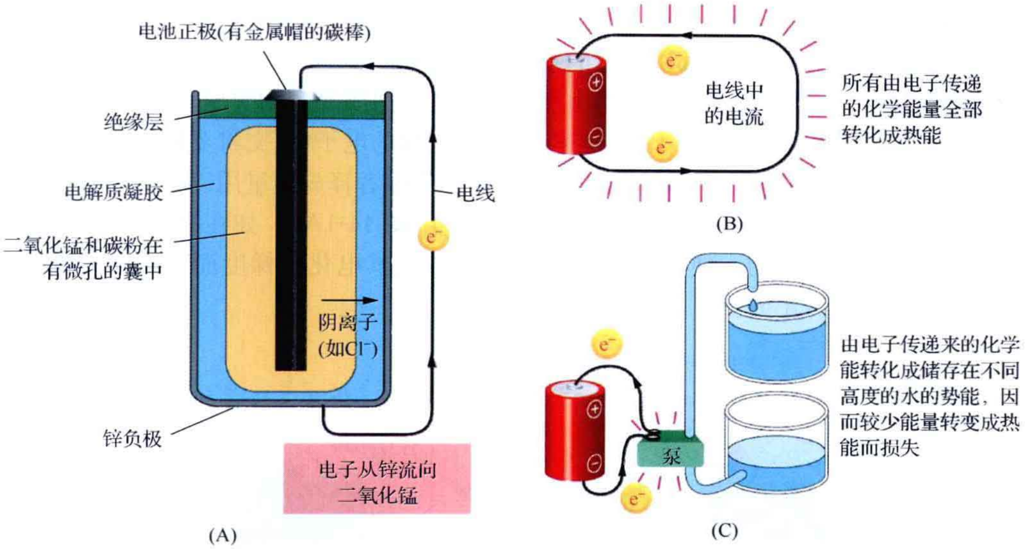


图 14-2 电池由基于电子传递的化学反应来提供动力。(A) 当一节标准的手电筒电池与电路相连时，电子从金属锌传递到二氧化锰(MnO_2)中的锰原子，形成产物 Zn^{2+} 和氧化锰(MnO)(电池中的碳棒只是简单地用来转导电子)。(B) 如果电池两端直接相互连接，电子传递释放的能量全部转化成热能。(C) 如果电池连接在泵上，电子传递所释放的许多能量可被用来做功(在本例中是抽水机)。类似地，细胞利用电子传递的能量来发动机械装置，如图 14-1 所示。

我们将回顾这些能量生成机制的演化通路。通过考察各种单细胞生物——包括某些可能重现我们早期的单细胞祖先——的生活方式，我们能够开始明白化学渗透偶联在复杂真核生物的发生过程中乃至地球上所有生命的发育过程中所具有的重要作用。

14.1 线粒体和氧化磷酸化

线粒体几乎存在于一切真核细胞包括植物、动物和绝大多数的真核微生物中，正是在这个细胞器内产生了一个细胞所需的大部分 ATP。没有线粒体，今天的真核细胞将依赖效率相当低的糖酵解来生产其全部 ATP，而用这样的方法，似乎不可能支持复杂的多细胞生物体。当葡萄糖通过糖酵解转化为丙酮酸时，每一分子葡萄糖只能生产 2 个 ATP 分子(少于潜在可利用总自由能的 10%)。反之，在线粒体中，糖代谢是完全的，释放的能量被利用得如此有效，以致每一分子葡萄糖氧化能产生 30 个分子的 ATP。

线粒体的功能缺失会对生物体造成严重的后果。例如，一种线粒体转运 RNA(tRNA)基因的突变能造成肌阵挛性癫痫与破损性红肌纤维病(MERRF)的遗传性疾病。这种疾病因线粒体转运 RNA(tRNA)基因之一突变所致，能够导致合成电子传递和 ATP 合成的线粒体蛋白的合成能力下降。这种疾病的患者通常表现出肌无力或者心脏问题(心肌遭受影响)以及癫痫或痴呆(神经细胞遭受影响)。在线粒体存在缺陷的时候肌肉和神经细胞遭受的影响最大是因为它们的正常生理功能需要大量的 ATP 供应。

同样的事件也发生在没有线粒体的需氧细菌中，它们不具备线粒体，在这些细菌中质膜执行化学渗透过程。线粒体与细菌细胞不同的是，细菌还执行许多其他功能，而线粒体已高度特化为产能的细胞器。

14.1.1 线粒体由外膜、内膜以及两个膜被区室构成

线粒体通常和细菌的大小及形状差不多，虽然这些特点随细胞的类型而改变。它们含有自己的DNA和RNA，有一整套包括核糖体在内的完整的转录和翻译系统，使它们能合成某些自己的蛋白质。活细胞的缩时电影显示线粒体是一个运动活跃的细胞器，不断地在改变形状和位置。线粒体数量很大(例如，一个肝细胞中含有1000～2000个线粒体)，能与细胞骨架的微管结合，形成长的移动链(见第17章)。在其他细胞中，它们固定在细胞的一个位置，以利于将ATP直接送到通常ATP消耗大的部位。例如，在心肌细胞中，线粒体位于紧靠收缩器的地方，而在精子中它们紧紧地围绕着活动的鞭毛(图14-3)。不同细胞类型所含有的线粒体数目差异很大，还会随着细胞对能量需求的改变而变化。例如，在骨骼肌细胞中，在肌肉受到重复性的刺激进行收缩时，线粒体的数目可以通过生长和分裂提高5～10倍。

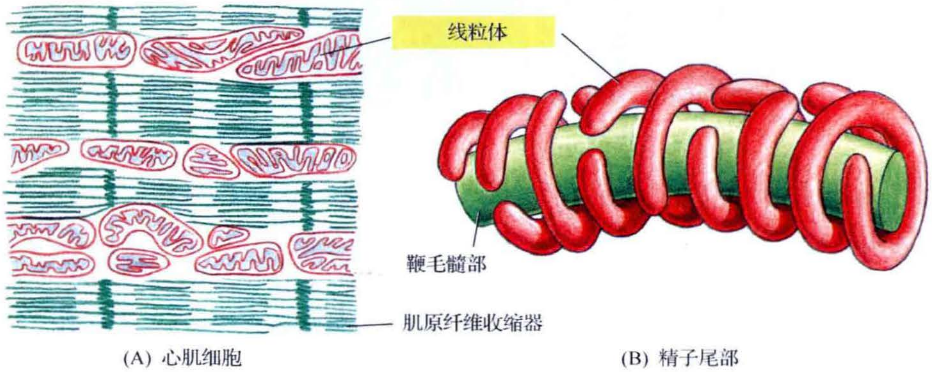


图14-3 线粒体位于靠近ATP用量最高的位点。(A)在心肌细胞中，线粒体位于靠近收缩器的部位，在那里ATP水解提供收缩的能量。(B)在精子中，线粒体位于尾部，围绕着活动鞭毛的中轴，鞭毛运动需要ATP。

每一个线粒体有两层高度特化的膜包被，一层包在另一层外面，这对线粒体活动起着极为重要的作用。线粒体的外膜和内膜产生了两个线粒体区室：一个大的内部空间称为**基质**，另一个窄得多的称为膜间隙(图14-4)。如果对纯化的线粒体进行温和处理，并以差速离心将其分成分离的组分(图版4-4)，就可以决定这两层膜中每一层及其所包被空间的生化组成。每个都包含一组独特的蛋白质。

线粒体外膜含有许多个称为孔蛋白的转运蛋白分子，如在第11章中所描述的那样，这些蛋白质形成通过脂双层的张开的亲水通道。结果，外膜像筛子一样，允许分子量等于或小于5000的所有分子通过，包括小的蛋白质在内。这就使得膜间隙所含的小分子和胞质溶胶在化学组成上相同。反之，内膜与其他细胞中的膜一样，对离子和大多数小分子是不可通透的，除非有膜转运蛋白提供通道。因此线粒体基质只含有能被选择性地通过内膜的分子，其内含物是高度特殊化的。

线粒体内膜是电子传递和泵送质子的部位，并含有ATP合成酶。大多数埋在线粒体内膜中的蛋白质是氧化磷酸化所需的电子传递链组分。内膜由一种特殊的脂质构成，同时也含有各种转运蛋白，选择性地允许小分子如丙酮酸和脂肪酸进入基质。

通常内膜高度折曲，形成一系列的内褶，称为嵴。嵴伸入基质中，大大增加了内膜的表面积(图14-4)。这些折曲提供了很大的表面来合成ATP。例如，在肝细胞中所有线粒体的内膜约为细胞全部膜的1/3。而且心肌细胞线粒体所含有的嵴的数量比肝细胞线粒体中的要多3倍。

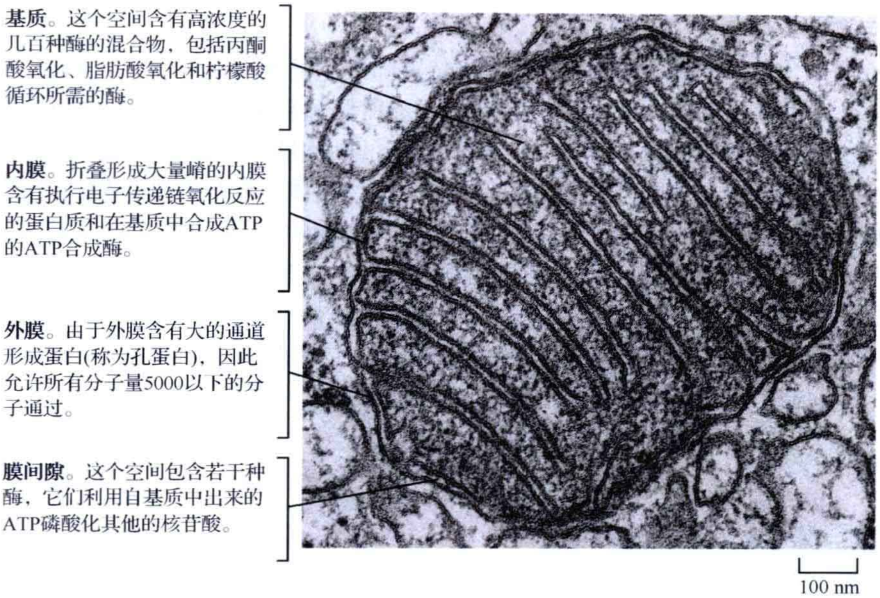


图 14-4 线粒体内形成四个独立的区室。每个区室都含有一套独特的蛋白质，使之行使特定的功能。在肝线粒体中，总线粒体蛋白质约有 67% 位于基质中，21% 位于内膜，6% 在外膜，6% 在膜间隙中。（承蒙 Daniel S. Friend 惠许）

14.1.2 高能电子通过柠檬酸循环产生

线粒体既能用丙酮酸也能用脂肪酸作为燃料。丙酮酸来自葡萄糖而脂肪酸来自脂肪。这两种燃料分子都被运过线粒体内膜并由位于线粒体基质内的酶转化为关键性的代谢中间产物乙酰 CoA(图 13-10)。然后乙酰 CoA 中的乙酰基团在基质内通过柠檬酸循环氧化(见图版 13-2)。该循环将乙酰辅酶 A 中的碳原子转化为 CO_2，作为代谢产物排出。同时还产生由活化载体分子 NADH 和 $FADH_2$ 携带的高能电子(图 14-5)。

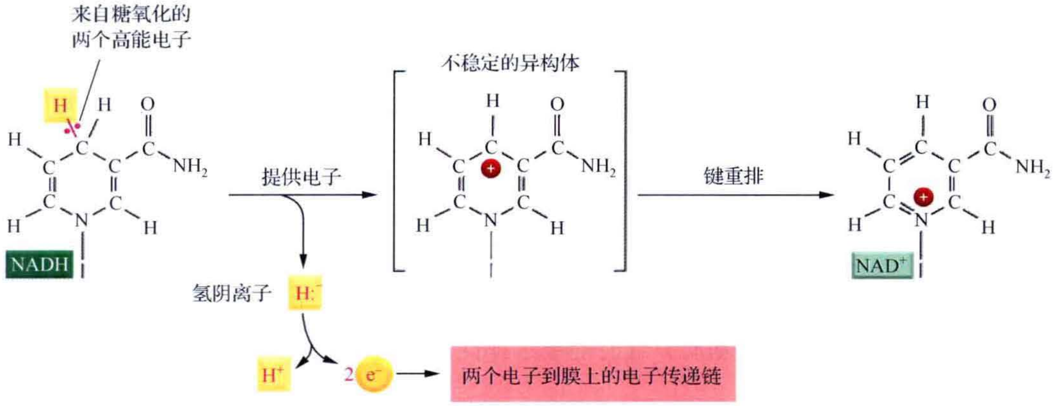


图 14-5 NADH 为电子传递链提供电子。在本图中，高能电子用黄色氢原子上的两个红点标示，一个氢阴离子(带有一个额外电子的氢原子)从 NADH 上移走并转化形成一个质子和两个高能电子。图中只表示携带了在高能键中的电子的环；要了解完整的结构以及 NAD^+ 转化回到 NADH，请参见图 3-34 中 NADPH 的相关结构。$FADH_2$ 也用一种相似的方式携带电子，其结构请见图 13-12B。

虽然柠檬酸循环被认为是有氧代谢的一部分，但其本身并不使用氧气(O_2)。氧气只是在线粒体内膜中发生的最终代谢反应中被消耗，这将在下文中提及。

14.1.3 化学渗透过程将活化载体分子携带的能量转化为 ATP

糖类、脂肪以及其他食物的早期燃烧所提供的几乎所有可用的能量都储存于糖酵解和柠檬

酸循环过程中产生的活化载体分子 NADH 和 $FADH_2$ 中。这些载体分子将其高能电子提供给线粒体膜中的电子传递链，进而被氧化为 NAD^+ 和 FAD。这些电子快速的沿着传递链传递至氧分子(O_2)以形成水。高能电子沿着电子传递链的传递释放了用以将质子泵入线粒体内膜的能量(图 14-6)。

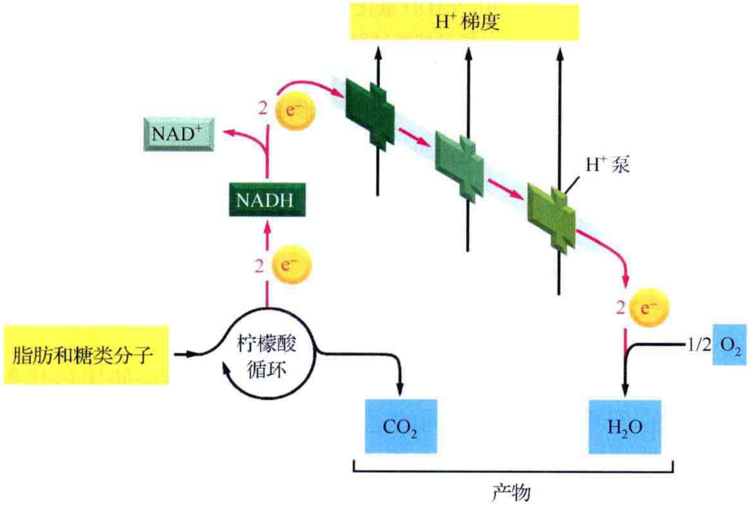


图 14-6 质子被泵送通过线粒体内膜。图中只显示了化学渗透偶联的Ⅰ期(见图 14-1)。电子流的路径用红色箭头表示。

所产生的质子梯度转而驱动 ATP 的合成。整个反应的顺序如图 14-7 所示。线粒体内膜因而作为能量转化装置，将 NADH 中高能电子的能量转化为 ATP 中高能磷酸键的能量(图 14-8)。这种 ATP 合成的化学渗透机制称为**氧化磷酸化**，因为其涉及氧分子的消耗以及添加磷酸基团至 ADP 上以形成 ATP。

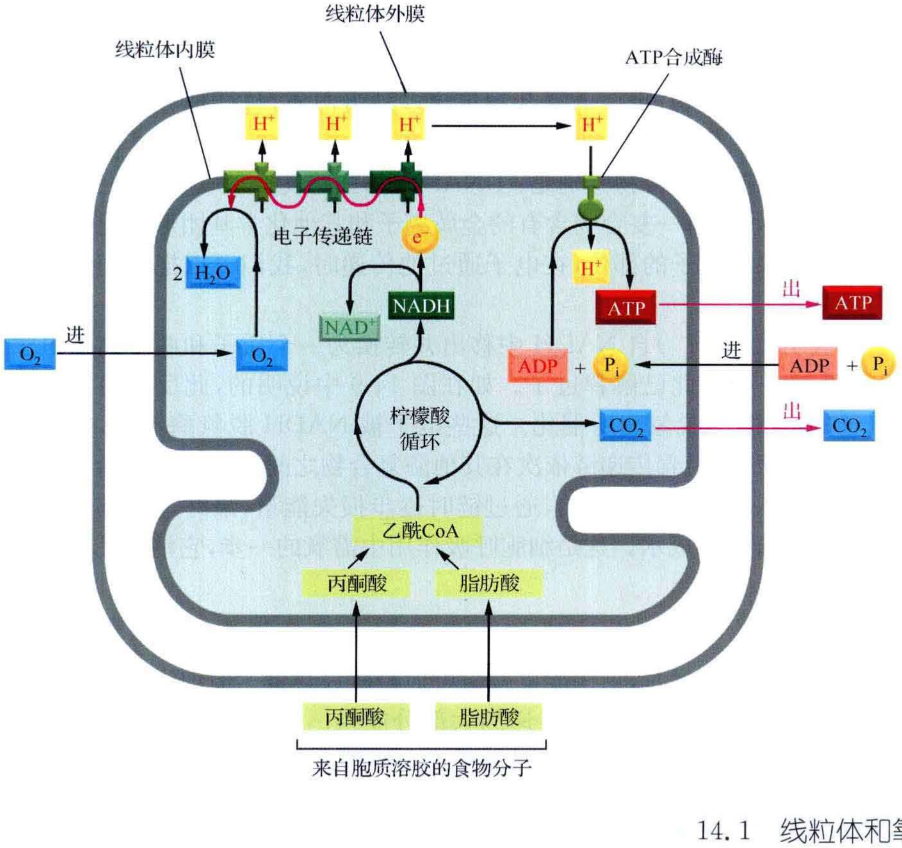


图 14-7 柠檬酸循环过程中产生的高能电子为生产 ATP 提供动力。丙酮酸和脂肪酸进入线粒体(底部)，转变成乙酰 CoA，然后经柠檬酸循环代谢，把 NAD^+ 还原成为 NADH(同时也将 FAD^+ 还原成 $FADH_2$，图中未显示)。在氧化磷酸化过程中，来自 NADH 以及 $FADH_2$ 的高能电子然后沿着内膜中的电子传递链传递给氧(O_2)。这种电子传递产生一个横跨内膜的质子梯度，用以驱动 ATP 合成酶产生 ATP。在这个图中，“反应物”和“产物”的精确比例被忽略了。例如，我们将粗略地看到需要 4 个来自 NADH 分子的电子将 O_2 转化成 2 个 H_2O 分子。

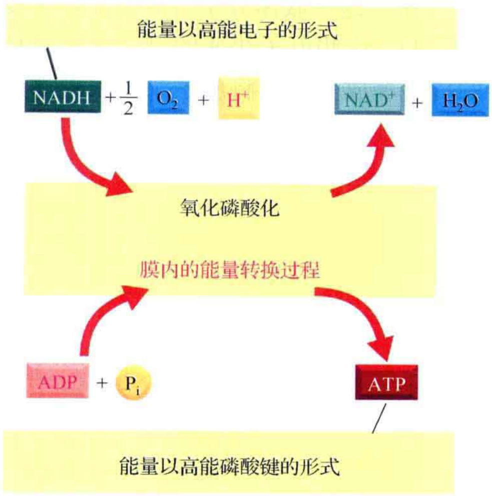


图 14-8　线粒体催化主要的能量转换。在氧化磷酸化中，NADH 氧化为 NAD^+ 时所释放的能量通过在膜内的能量转换过程驱动 ADP 的需能磷酸化来形成 ATP。NADH 失去的高能电子沿膜内的电子传递链，最终与分子氧和 H^+ 结合形成水。这个过程有两个电子从 NADH 传递到氧，其净反应为 $NADH+\frac{1}{2}O_2+H^+ \longrightarrow NAD^+ + H_2O$。

虽然化学渗透偶联很多年一直未被人们所检测到，但绝大多数的生命体都是使用该机制来产生 ATP。驱动质子泵的电子来源在不同的物种和不同的过程中广泛的不同。在线粒体的有氧呼吸和好氧菌中，电子最终来源于葡萄糖或脂肪酸。在光合作用中，所需的电子来源于光作用于绿色色素叶绿素。很多细菌需要使用无机底物如氢，离子以及硫作为高能电子源来产生 ATP。

14.1.4　电子传递链将质子泵入线粒体内膜

实现氧化磷酸化的电子传递链在线粒体内膜中有许多套。它也叫**呼吸链**，含有 40 种以上的蛋白质。这些蛋白质绝大部分埋在脂双层中，并只在完整的膜内才能行使功能，因而对其进行研究较为困难。然而像其他膜蛋白一样，电子传递链的组分能用非离子型去垢剂溶解（图 11-27）、纯化，并能重建成可操作的小的膜小泡形式。这种研究揭示出大多数涉及线粒体电子传递链的蛋白质分属三种大的**呼吸酶复合物**，每一个复合物包含多种蛋白质，包括把整个蛋白质复合物牢牢固定在线粒体膜上的跨膜蛋白。

按照接受电子顺序这三种呼吸酶复合物分别是：①**NADH 脱氢酶复合物**；②**细胞色素 b-c_1 复合物**；③**细胞色素氧化酶复合物**。每一复合物含有的金属离子和其他化学基团形成通过复合物的电子通道。呼吸复合物是泵送质子的部位，在电子通过他传递时，我们可以把它们看作是把质子泵送过膜的蛋白质机器。

电子传递开始于一个氢阴离子（H^-）自 NADH 中移出并转换为一个质子和两个高能电子时：$H^- \longrightarrow H^+ + 2e^-$，在图 14-5 中对此已解释过了。如在图 14-9 中说明的，此反应由第一种呼吸酶复合物即接受电子的 NADH 脱氢酶所催化。这些电子被 NADH 脱氢酶接受，然后利用以后将讲到的可移动的电子载体，沿着传递链依次在其他酶复合物之间摆渡。电子沿着链传递在能量方面是有利的。电子从很高的能量开始，通过链时逐步损失能量，最终进入细胞色素氧化酶，在那里和 1 分子 O_2 结合并形成水。这是细胞呼吸作用中需氧的一步，它消耗几乎所有我们呼吸的氧。

14.1.5　泵送质子产生陡峭的跨线粒体内膜的电化学质子浓度梯度

在无法利用电子转移所释放的能量时，这些能量就简单地释放为热量。但细胞通过能够泵送质子的蛋白质内发生的电子转移，来利用电子传递的大部分能量。通过这种方式，电子以能量最适的方式沿着电子传递链传递，将质子泵出线粒体基质进入外膜和内膜间的空间（图 14-9）。

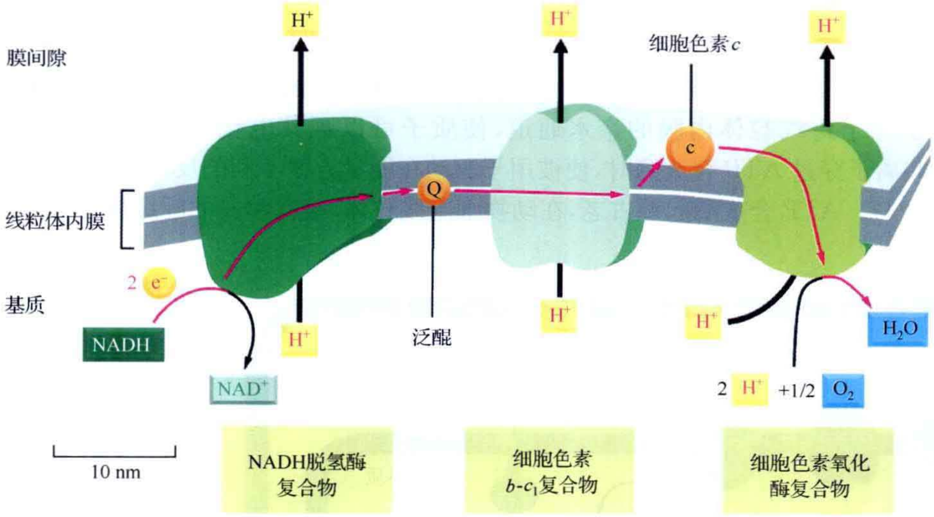


图 14-9 在线粒体内膜上，电子通过三种呼吸酶复合物而被传递。图中指出了每种复合物的相对大小和形状。在电子从 NADH 传递到氧的过程中（红线），来自水的质子被每个呼吸酶复合物泵送过膜，从基质进入膜间隙。泛醌（Q）和细胞色素 *c*（*c*）作为可移动的载体，将电子从一个复合物运送到下一个复合物。

在本章稍后我们将详述电子传递与质子移动偶联的详细分子机制。这里，我们将重点集中在这个精巧的过程所产生的结果。首先，主动泵送的质子在线粒体内膜两侧产生了 H^+ 浓度梯度，这是一种 pH 梯度，导致基质中的 pH 比膜间隙的（接近 7，与胞质溶胶中的 pH 相同）高 0.5 个单位。其次，质子泵送在线粒体内膜产生了跨线粒体内膜的膜电位，其内侧（基质侧）为负而外侧为正，这是带正电荷的质子净流出所致。

在第 12 章中讨论过，驱动被动离子流的动力与离子的跨膜电化学梯度成正比。这本身又依赖于跨膜电位差，它以膜电位来度量并依赖于这种离子的浓度梯度（图 12-7）。由于质子是带正电荷的，如果膜另一侧带较多负电荷的话，质子就较为容易通过膜。对于线粒体内膜来说，pH 梯度和膜电位就共同起作用，建立起一个陡峭的电化学质子梯度，使 H^+ 流回线粒体基质，并在能量方面变得十分有利。在所有本章讨论的产能膜中，膜电位参与把 H^+ 拉回过膜的驱动力中（称为质子动力势），因此这一电位增加了储存在质子梯度中的能量（图 14-10）。

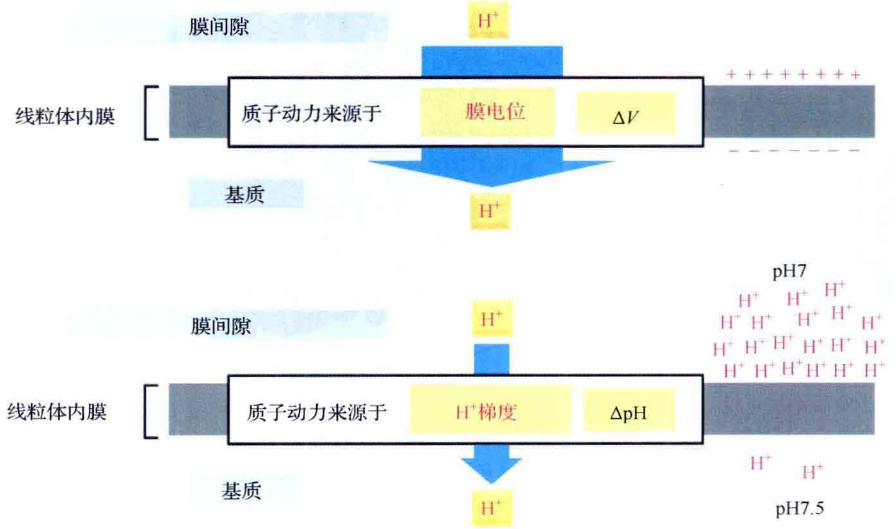


图 14-10 跨越线粒体内膜的电化学 H^+ 梯度由一个源于膜电位（ΔV）的大的力和一个源于 H^+ 浓度梯度（ΔpH）的小的力组成。这两种力组合产生总的质子动力驱动 H^+ 进入胞质空间。这两种力的相互关系用能斯特（Nernst）方程来表述（图 12-30）。

14.1.6 电化学质子梯度驱动 ATP 合成

如上文所描述的，在氧化磷酸化过程中，跨线粒体内膜电化学质子梯度被用于驱动 ATP 合成。完成这个过程的装置是一种包被于线粒体内膜中的大型膜结合酶，也称为 ATP 合成酶。ATP 合成酶创造了一个跨线粒体内膜的亲水通道，使质子可以顺其电化学梯度而下流动（图 14-11）。当这些离子穿过 ATP 合成酶时，便被用于驱动在能量方面不利的反应，使 ADP 和 Pi 生成 ATP（图 2-24）。ATP 合成酶起源古老，在动物细胞线粒体、植物和藻的叶绿体、细菌的质膜中都有这种酶。

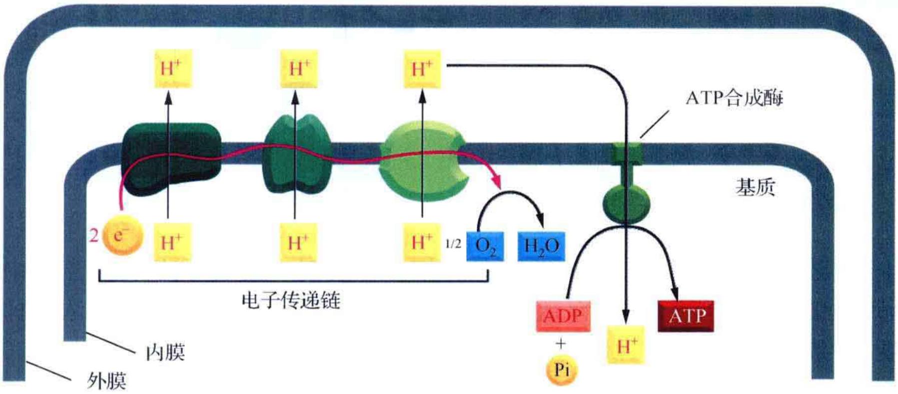


图 14-11 横跨线粒体内膜的电化学质子梯度使 ATP 合成酶产生 ATP。 当一个高能电子沿着电子传递链传递时，释放出来的大部分能量用于驱动三个呼吸酶复合物，把 H^+ 泵送出基质空间。所产生的跨内膜电化学质子梯度驱动 H^+ 通过 ATP 合成酶，这种跨膜蛋白质利用质子流的能量在基质中由 ADP 和 Pi 合成 ATP。

ATP 合成酶结构如图 14-12 所示，它是一种大型多亚基的蛋白质。一个大的酶性部分像一根棒棒糖的头，突出在线粒体内膜基质一侧并进行磷酸化反应。该酶的结构通过一个细细的多亚基的柄附着在跨膜载体上。当质子通过载体中的狭窄通道时，它们的移动引起柄在头内快

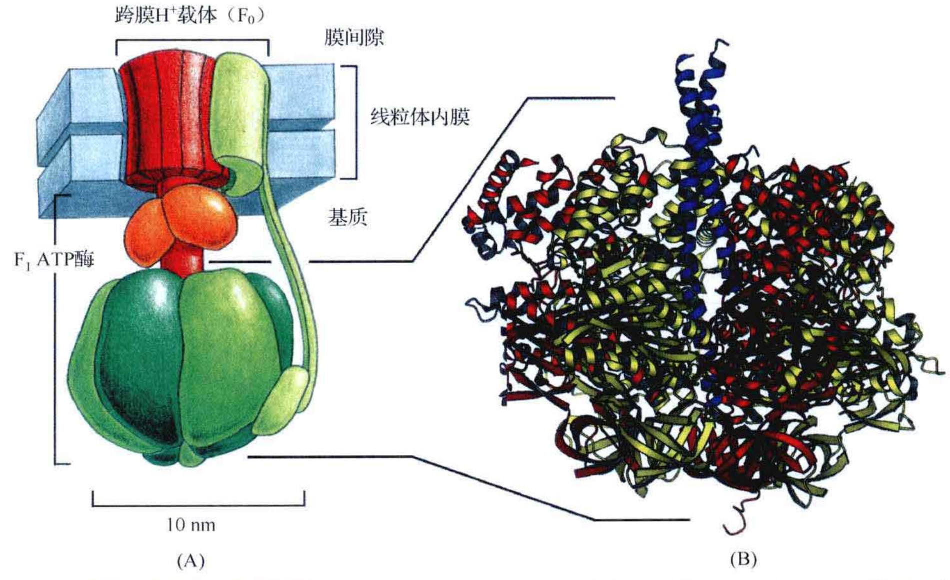


图 14-12 ATP 合成酶的形状像一个棒棒糖。（A）该酶由一个称为 F_1ATP 酶的头部和一个称为 F_0 的跨膜 H^+ 载体构成。正如图中所示，F_1 和 F_0 都由多个亚基构成。由一个转子加一根柄（红色）组成的 F_0 部分在质子的驱动下在膜内旋转。由跨膜亚基形成的定子（浅绿色）紧密结合于形成一个延伸臂的其他亚基。这个臂把定子固定在一圈亚基上，而这些亚基形成 ATP 酶的固定头部。它的 β 亚基（暗绿色）产生 ATP。（B）通过 X 射线晶体学方法测定的 F_1ATP 酶的三维结构。ATP 酶的这个部分的名称来源于它能够执行 ATP 合成的逆反应，也就是当它从跨膜部分脱离下来时能将 ATP 水解成 ADP 和 Pi。（图 B 承蒙 John Walker 惠许，引自 J. P. Abrahams et al.，*Nature* 370：621-628，1994. 并获 Macmillan Publisher Ltd. 版权许可）

速转动，导致头部制造 ATP(图 14-12A)。该合成酶本质上就是一个产生能量的分子马达，将质子沿浓度梯度而下的能量转化为两组相互摩擦的蛋白的机械能，即旋转的柄推动固定的头蛋白。柄的运动改变了头部亚基的构象。这种机械形变进而在亚基合成 ATP 的时候转化为了化学键能。通过这个跨膜载体合酶能在每秒内产生 100 个以上的 ATP 分子，每合成一个 ATP 分子需要 3 个质子通过这一奇妙的装置。

ATP 合成酶是一种可逆的偶联装置，既能利用沿电化学梯度而下的质子流来制造 ATP (其在线粒体和需氧细菌质膜内正常作用)，也能利用 ATP 水解的能量，像第 12 章中讲的 H^+ 泵那样(图 14-13)把质子泵送过膜。ATP 合成酶主要是制造还是消耗 ATP 取决于其所在部位跨膜电化学质子梯度的大小。在许多既能好氧生长又能厌氧生长的细菌中，ATP 合成酶的工作方向通常在细菌耗尽 O_2 时逆转。此时 ATP 合成酶利用细胞中糖酵解产生的一些 ATP 把质子泵送出细胞，创造一个质子梯度以供细菌细胞主动转运输入其必不可少的营养物质，这在下文中将会谈到。

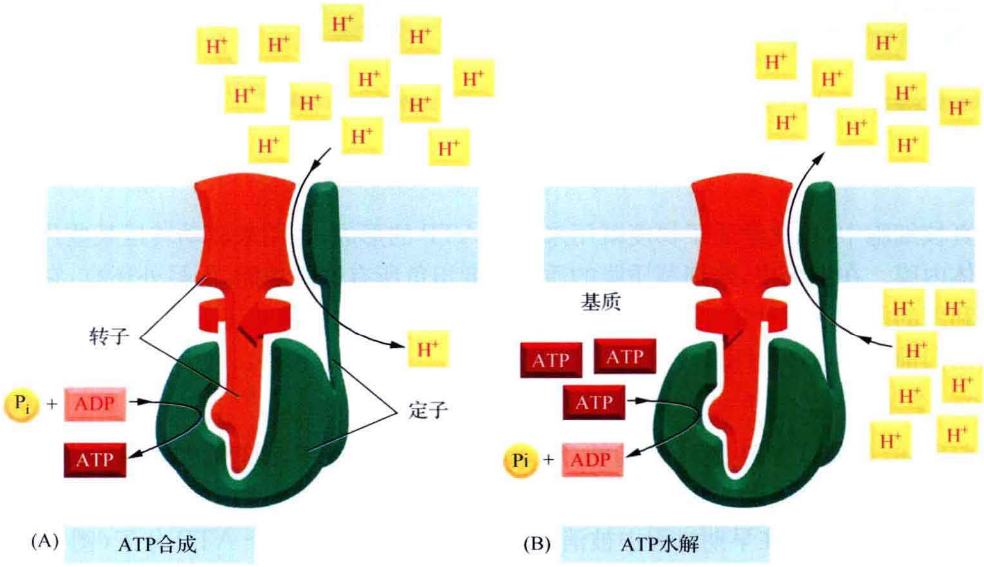


图 14-13　ATP 合成酶是一个可逆的偶联装置，能将电化学质子梯度的能量转变成化学键能，反之亦然。 ATP 合成酶既能利用 H^+ 梯度合成 ATP(A)，又能靠水解 ATP 逆着质子电化学梯度来泵送质子(B)。在任意给定的时间内，运转的方向取决于 H^+ 跨膜转移和由 ADP 和 Pi 合成 ATP 的偶联过程的净自由能改变(ΔG，已在第 3 章中讨论)。例如，如果电化学质子梯度下降到某一水平，H^+ 转入基质的 ΔG 已不再足以驱动 ATP 的产生。此时，ATP 将被 ATP 合成酶水解以重建这个梯度。ATP 合成酶的作用见视频 14.3 和视频 14.4。

14.1.7　电化学质子梯度驱动跨线粒体内膜的偶联转运

电化学质子梯度并不只驱动 ATP 合成。在线粒体中，许多带电荷的分子如丙酮酸、ADP 和 Pi 都自胞质溶胶被泵送入基质，而其他分子如 ATP 必须反向转运。许多载体蛋白把转运与在能量方面有利的进入线粒体基质的质子流偶联起来。这样，丙酮酸和无机磷酸(Pi)就可以随着 H^+ 沿电化学梯度移动的时候协同转运进入基质。

其他的载体蛋白能够利用电化学质子梯度产生膜电势，从而使线粒体内膜的基质一侧比另一侧的膜间隙带有更多的负电。反向协同转运载体能够利用这种电压梯度将 ATP 移出线粒体基质，并将 ADP 运入线粒体基质。由于一个 ATP 分子比一个 ADP 分子多带一个负电荷，每次核苷酸交换导致从线粒体净移出一个负电荷。所以 ADP－ATP 协同转运由膜两侧电荷差

异所驱动(图 14-14)。

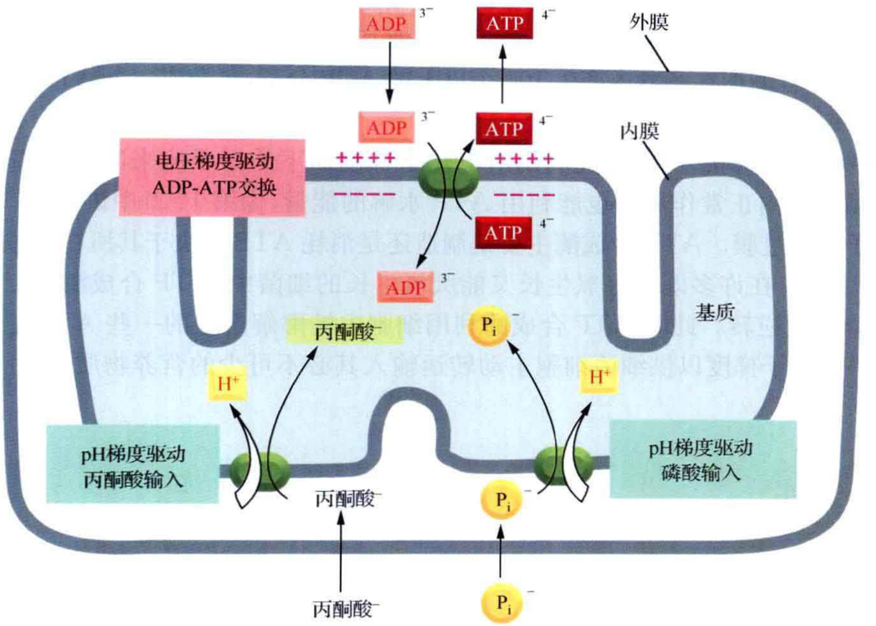


图 14-14 跨越线粒体内膜的电化学质子梯度被用来驱动一些偶联运输的过程。当 H^+ 离子沿电化学梯度移至低处时，丙酮酸和无机磷酸(Pi)跟着进入基质。通过依赖于跨膜电压梯度(膜电位)的反向转运(ADP-ATP交换)，ADP 被泵入而 ATP 则被泵出。图中标识了每个被转运分子的电荷，以便与内部呈负电性的膜电位比较。外膜是允许所有这些化合物自由通过的。在第 12 章中，我们已讨论过载体蛋白所进行的跨膜分子的主动运输和膜电位产生。

在真核细胞中，电化学质子梯度既用来驱动 ATP 的形成，也用来驱动转运某些代谢产物越过线粒体内膜。在细菌中，跨细菌质膜的质子梯度担负所有这些功能，但另外还有：它本身就是直接可利用的能量的一种重要来源；在可以运动的细菌中，这种梯度还驱动细菌鞭毛迅速转动，推动细菌向前运动(视频 14.5)。

14.1.8 氧化磷酸化产生细胞的大部分 ATP

如前所述，单靠糖酵解，每个葡萄糖分子净得 2 分子的 ATP，而葡萄糖的完全氧化，包括糖酵解和氧化磷酸化，则能够产生大约 30 个 ATP 分子。在糖酵解过程中，ATP 分子的来源是显而易见的：2 分子 ATP 在早期过程中被消耗掉并在最终产生了 4 个 ATP 分子(图 13-3)，但对于氧化磷酸化来说，ATP 就不能那么简单地计算了，因为这些 ATP 并不像糖酵解中的那样直接产生。它们是由糖酵解和柠檬酸循环过程中产生的能量载体 NADH 和 $FADH_2$ 所产生的。这些活化的载体分子为线粒体内膜上的电子传递链提供电子。这些电子沿着呼吸链移动促进了质子梯度的形成，而质子梯度则驱动了 ATP 的合成。

每个载体分子最终能够产生多少的 ATP 分子取决于几个因素，包括电子进入呼吸链的位置。线粒体中进行的柠檬酸循环中所产生的 NADH 分子，将它们的电子传递至传递链中的第一呼吸酶复合体 NADH 脱氢酶中。这些电子随后沿着一个接一个的酶复合体传递，每个步骤中都促使质子进行跨线粒体内膜的泵送。这些 NADH 分子每转移一对电子提供形成约 2.5 个 ATP 分子所需要的能量(见问题 14-5 及其答案)。

另外，柠檬酸循环中所产生的 $FADH_2$ 每一电子对在氧化磷酸化中只产生 1.5 分子的 ATP。这是因为 $FADH_2$ 分子绕过了 NADH 脱氢酶复合体，并将它们的电子传递给膜包被的移动载体泛醌(图 14-9)。这些电子进一步沿着呼吸链传递，因而只能促使相对较少的质子泵送，并产生较少的 ATP 分子。表 14-1 展示了氧化磷酸化过程中，每分子葡萄糖完全反应所产生的 ATP 分子的计算。

表 14-1 葡萄糖的氧化产物

过程	直接产物	每分子葡萄糖最终产生的 ATP
糖酵解	2 NADH(胞质溶胶中)	3*
	2 ATP	2
丙酮酸氧化到乙酰 CoA(每分子葡萄糖产生 2 分子)	2 NADH(线粒体基质)	5
乙酰 CoA 的完全氧化(每分子葡萄糖产生 2 分子)	6 NADH(线粒体基质)	15
	2 $FADH_2$	3
	2 GTP	2
	共计	30

* 与线粒体基质产生的 NADH 相比,在胞质溶胶中产生的 NADH 生成更少的 ATP 分子,这是因为线粒体内膜对 NADH 是不通透的。因而,将 NADH 转运进入线粒体基质并遇到 NADH 氢化酶,是需要能量的。

脂肪酸的氧化也能够产生大量的 NADH 和 $FADH_2$,从而通过氧化磷酸化产生大量的 ATP(图 13-9,图 13-10)。因此,动物细胞中的绝大多数 ATP 分子是通过线粒体膜上的化学渗透机制产生的。

14.1.9 在线粒体内 ADP 快速转变成 ATP,使细胞内维持 ATP/ADP 的高比率

上文所述的共转运过程的结果使得胞质溶胶内 ATP 水解产生的那些 ADP 分子利用前述线粒体内膜中的转运蛋白迅速进入线粒体进行再充电,而在线粒体基质内由氧化磷酸化形成的 ATP 分子则被迅速泵入需要它们的胞质溶胶中去。少量的 ATP 分子为线粒体本身所利用,以用于自身的 DNA 复制、蛋白质合成以及其他的耗能反应。在人体内一个典型的 ATP 分子离开线粒体并(以 ADP 形式)返回再充电,每分钟往返一次以上,保持细胞内 ATP 浓度约为 ADP 的 10 倍。

如第 3 章讨论的,生物合成酶常常驱动在能量方面不利的反应,把它们与在能量方面有利的 ATP 水解作用偶联起来(图 3-33A)。ATP 库用以驱动细胞过程与电池用以驱动电动机的机制大致相同:如果线粒体活动停止,ATP 水平会下降,细胞的电池会用完,最后在能量方面不利的反应不再进行,细胞便死亡。氰化物可以阻断线粒体内膜中的电子传递,并以这种方式引起细胞死亡。

14.2 电子传递与质子泵送的分子机制

讨论了线粒体进行电子传递产生 ATP 的一般情况之后,我们要探讨这一膜内能量转换过程较为详细的机制。这样做还有一个更大的目的。正如本章开始时所强调的,线粒体、叶绿体和细菌所用的能量转换设施是十分相似的,因而下面要讨论的机制的基本原理构成几乎一切生物的这些功能的基础。

多年来,电子传递链为什么埋在膜内的原因难倒了正在苦苦寻找答案的生物化学家。化学渗透偶联过程需要化学和电力的相互作用,这在分子水平上很不容易解释。20 世纪 60 年代初提出了跨膜质子梯度在能量产生中的基本作用后,这一难题基本上得到解决。但这个假说太过新颖,因此直到好多年之后,在为检验这个假说而设计的实验积累了其他支持性证据之后,这一假说才被广泛接受(参见"我们如何得知")。

虽然今天的研究者仍在探索化学渗透偶合的许多细节,但基本情况现在已经清楚。在本章的这一部分,我们将着眼于构成电子传递过程基础的一些原理并解释它如何产生一个质子梯度的。

14.2.1 质子很容易被电子传递移动

虽然质子采用像 Na^+、K^+ 等其他阳离子类似的方式通过膜,但在某些方面是独特的。氢原

子显然是生物体内含量最多的原子，它不仅富含在所有含碳生物分子中，也富含在其周围的水分子中。水中的质子是高度活动性的，它迅速脱离一个水分子，飞快地穿越水分子的氢键网络，去与相邻的另一个水分子结合。这样在细胞内到处都有的水就充当了一个提供和接受质子的现成水库。

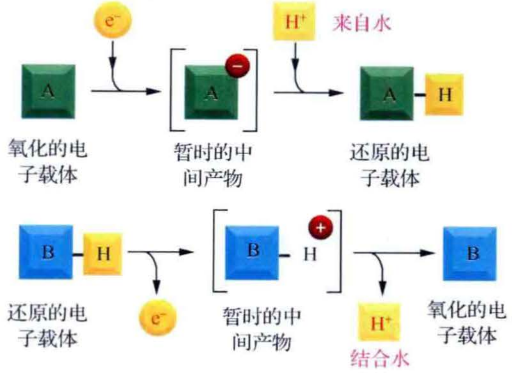


图 14-15　**水中的质子移动性强。**电子的传递能够引起整个氢原子的传递，因为从水中接受或向水提供质子是很容易的。在这个例子中，A 在还原时获得一个电子和一个质子，而 B 在氧化时失去一个电子和一个质子。

无论在什么时候一个分子获得一个电子而还原时，电子(e^-)都带给它一个负电荷。在许多情况下，这一电荷很快被一个水中的质子(H^+)中和。所以还原的净效应是转移一整个氢原子，$H^+ + e^-$(图 14-15)。类似地，当一个分子氧化时，氢原子随即分解为组成它的电子和质子，电子转移到接受电子的分子而质子则转移到水。因此，对于一个沿着电子传递链传送电子的膜来说，就原理而论，从这个膜的一侧把质子泵送到另一侧是一件比较简单的事，所需的只是电子载体在膜中的排列能使它在接受一个电子时从膜的一侧摄取一个质子，而当电子传递到链上下一个载体分子时，把质子释放到膜的另一侧(图 14-16)。

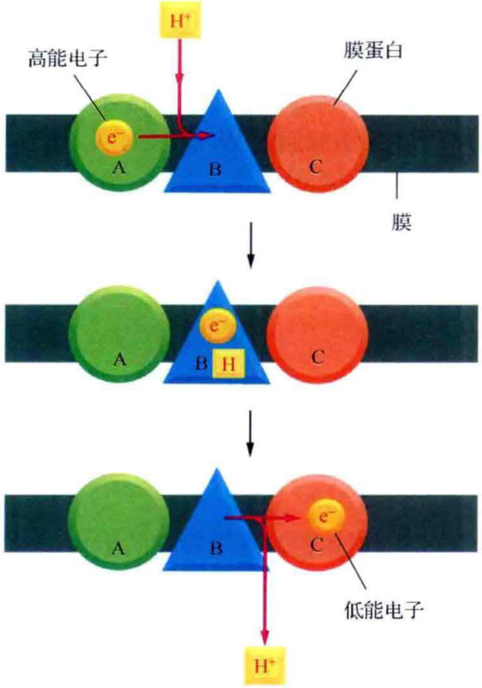


图 14-16　**电子载体的方向使电子传递可用于驱动质子泵抽。**当一个质子沿着电子传递链传递时，在每一步它都能结合和释放一个质子。在这个示意图中，当电子载体 B 从载体 A 接受一个电子(e^-)时，它就从膜的一侧获得一个质子；当它把电子递送给载体 C 时，它就将质子释放到膜的另一侧。

14.2.2　氧化还原电位是电子亲和性的量度

呼吸链中的蛋白能够引导电子依次从一个酶复合体移动至另一复合体，且不会跳过任何一个复合体。每一步电子转移都是一个氧化还原反应：就如第 3 章所描述的那样，提供电子的分子或者原子被氧化，而接受电子的分子或原子被还原(见 3.1 节)。电子能够自发的从相对低亲

和力的容易失去电子的分子移动至高电子亲和力不易失去电子的分子上。例如，具有高能电子的 NADH 具有低电子亲和力，因而它的电子能够容易地传递至 NADH 脱氢酶。我们常识中的电池也是基于两种具有不同电子亲和性的化学底物之间相似的电子转移机制实现的。

在生化反应中，任何电子离开一个分子，总是传到另一个分子，所以不论何时有一个分子氧化，就一定有一个分子还原。像其他任何化学反应一样，这种氧化还原的趋势，或**氧化还原反应**，依赖电子传递的自由能改变(ΔG)而自发地进行，也依赖于两个分子对电子的相对亲和性(自由能在化学反应中的作用在第 3 章中讨论过)。

由于电子传递为生物提供大部分的能量，值得我们花时间来了解它们。许多读者已经熟悉提供和接受质子的酸和碱(图版 2-2)。酸和碱以共轭酸碱对的形式存在，其中酸很容易失去一个质子转化成碱。例如，乙酸(CH_3COOH)在反应中转化成它的共轭碱(CH_3COO^-)：

$$CH_3COOH \rightleftharpoons CH_3COO^- + H^+$$

以同样的方法，如 NADH 和 NAD^+ 等成对的化合物称作**氧化还原对**，因为在下列反应中，NADH 失去电子成为 NAD^+：

$$NADH \rightleftharpoons NAD^+ + H^+ + 2e^-$$

NADH 是一种强电子供体：因为其电子保持在一种高能键合状态，把它的电子传送给许多其他分子而发生的自由能变化(ΔG)是有利的。相反，形成高能键是困难的，因此它的配偶 NAD^+，必须是弱的电子受体。

来自任何氧化还原对的电子传递趋势可以由实验测量。所需的只是一个 1∶1(等摩尔)的氧化还原对混合物，以及第二个已被任意选定的用作参照标准的氧化还原对，并连接成电路。这样可以测到两者间的电位差(图版 14-1)。这种电位差定义为**氧化还原电位**，意思为电子将自发从氧化还原电位较低的(对电子的亲和性低)氧化还原对如 $NADH/NAD^+$ 流向氧化还原电位较高的(对电子亲和性较高的)氧化还原对如 O_2/H_2O。因此 NADH 是一种很好的向呼吸链提供电子的分子，而 O_2 则是电子传送路径末端的“穴潭”。正如图版 14-1 所解释的，氧化还原电位差 $\Delta E'_0$ 是一个电子从一个分子转移到另一个分子的标准自由能改变(ΔG°)的直接量度。事实上，$\Delta E'_0$ 简单的等于 ΔG° 乘以一个负数常量。

我们如何得知：化学渗透偶联如何驱动 ATP 合成

1861 年，路易斯·巴斯德(Louis Pasteur)发现在空气存在的条件下酵母细胞的生长和分裂更加旺盛，初次证明了有氧代谢比无氧代谢更加有效率。他的发现在现在来说是很容易说通的，我们现在已经知道了氧化磷酸化是比糖酵解更有效率的产生 ATP 的方式：每分子葡萄糖氧化，电子传递系统能产生大约 30 个 ATP 分子，而糖酵解本身只能产生 2 个 ATP 分子。但直到一百多年以后，研究者才弄清是使用质子泵促进 ATP 合成的化学渗透偶联过程使得细胞能够如此高效地产生能量。

假想中的中间物

在 20 世纪 50 年代，很多研究者相信线粒体中进行氧化磷酸化产生 ATP 是通过糖酵解中类似的机制完成的。在糖酵解过程中，通过 ADP 分子直接从高能中间物获得磷酸基团从而产生 ATP。这样的底物水平的磷酸化发生在糖酵解的第 7 步和第 10 步，其中高能磷酸基团来自于 1,3-二磷酸甘油酸和磷酸烯醇式丙酮酸，并将 ADP 转化为 ATP(参见图版 13-1)。研究者们认为线粒体中的电子传递链也会产生类似一些高能中间物，能够直接的将其磷酸基团传递至 ADP。这个模型支撑着搜寻这个谜一般的中间产物的令人沮丧的研究进行了很多年。时有研究者报道他们发现了这个缺失的中间产物，但最终这些化合物被发现都与电子转运无关，或者就如一个研究者在生物能学综述中所提到的，只是“假想中的高能产物”。

利用驱动力

直到 1961 年，Peter Mitchell 才认为他的同事们所寻找的“高能中间物”事实上是电子转运系统产生的电化学质子梯度。他的猜想称为化学渗透假说，认为通过传递链转移电子形成的 H^+ 梯度能量能够用于驱动 ATP 合成。

有多种证据支持这个化学渗透偶联假说。首先，线粒体确实在它们的内膜上产生了质子梯度。但是这种梯度究竟起了何种作用？如果 H^+ 的电化学梯度（也成为质子动力势）对于驱动 ATP 合成是必需的，那么破坏这种梯度或者破坏膜本身应该能够抑制能量的生成。事实上，研究者们发现确实如此。物理方法扰乱线粒体内膜终止了 ATP 合成。类似地，通过使用化学“解偶联”试剂如 2,4-二硝基苯酚（DNP）也能够抑制 ATP 的生成。这些梯度驱动的化学物质携带 H^+ 跨过线粒体内膜，形成了一个绕过 ATP 合成酶的 H^+ 移动穿梭系统（图 14-17）。通过这种方式它们解除了电子转运和 ATP 合成间的偶联。这种短路的结果使得质子动力势被完全耗散从而不再产生 ATP。

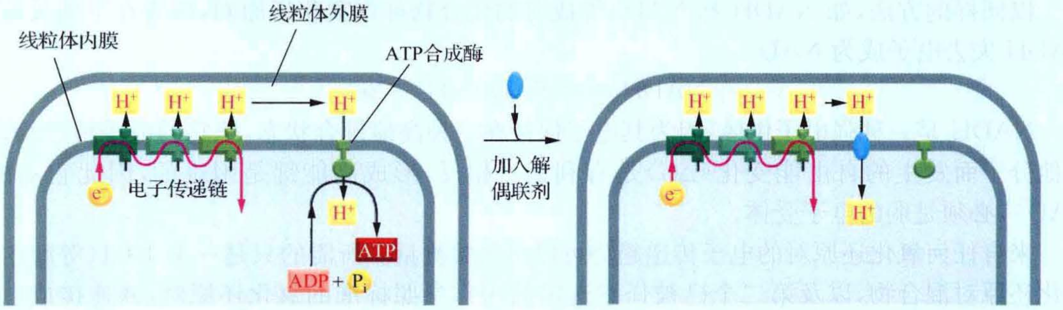


图 14-17　解偶联剂是 H^+ 载体，能够插入到线粒体内膜。它们赋予线粒体膜对 H^+ 的通透性，使 H^+ 无需通过 ATP 酶合成而进入线粒体。这个短路有效地解偶联 ATP 合成中的电子传递。

这样的解偶联在某些特化的脂肪细胞中也会天然地发生。在这些称为棕色脂肪细胞中，绝大部分氧化产生的能量被释放为热量而不是转化为 ATP。这些细胞中的大线粒体的内膜含有特殊的转运蛋白使质子沿着它们的电化学梯度而下，而规避了 ATP 合成酶。其结果是，细胞快速氧化它们的脂肪库存，并产生比 ATP 更多的热量。含有棕色脂肪的组织作为生物的热垫，帮助冬眠动物苏醒以及在严寒中保护新生婴儿的敏感部位（如他们的后颈）。

ATP 的人工生成

如果阻断横跨线粒体膜的质子梯度就会终止 ATP 的合成，那么相反地，人为地产生质子梯度必定可以激发 ATP 的产生。的确，这正是所发生的。当一个 H^+ 梯度通过降低 pH 被人为地强加在线粒体膜的胞质一侧时，即使在缺少氧化型底物的情况下也能合成 ATP。

这个质子梯度如何驱动 ATP 的产生？这正是 ATP 合成酶出现的地方。1974 年，埃夫拉伊姆·瑞克（Efraim Racker）和瓦尔特·斯都肯斯（Walther Stoeckenius）首先指出 ATP 合成酶加一个质子梯度的组合能够产生 ATP。他们发现通过将来自牛心线粒体的 ATP 合成酶和来自原核生物盐生盐杆菌（*Halobacterium halobium*）紫膜上的一种蛋白质混合，他们能够重新人为地构建完整的能量产生系统。正如我们在第 11 章中所讨论的，这类原始细菌的质膜包裹着紫膜质，这种蛋白能够将 H^+ 泵到细胞外，以此作为对阳光的应答（图 11-28）。因此，当这个膜蛋白暴露在阳光中时，就产生了一个质子梯度。

当细菌紫膜质被重组到人工脂质囊泡时，Racker 和 Stoeckenius 证明在有光的条件下，它能够将 H^+ 泵到囊泡内，产生一个质子梯度（在某种原因下，在这些膜上的蛋白方向发生颠倒，故而 H^+ 被转运到囊泡内；在细菌中，质子是被向外泵的）。当这些囊泡与从线粒体中纯化的 ATP 酶混合时，该系统就催化 ATP 的合成，以此作为对光的应答。这个 ATP 的形成需要 H^+ 梯度，因为研究人员发现减少系统中的紫质膜或增加解偶联剂都会减少 ATP 的合成（图 14-18）。

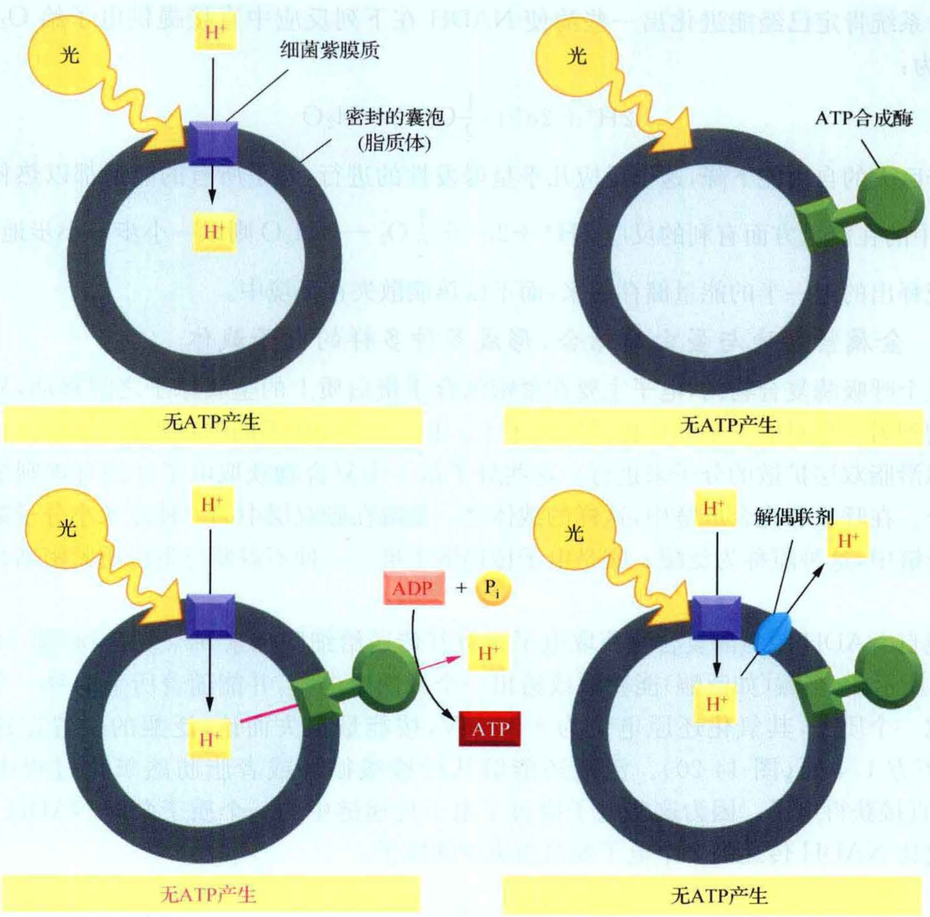


图 14-18 有关细菌紫膜质和来自牛心线粒体的 ATP 合成酶的实验为质子梯度能够推动 ATP 的产生提供了有力的证据。当细菌紫膜质加入到人工囊泡时，蛋白质响应光而产生一个质子梯度。在含有紫膜质和 ATP 合成酶的人工囊泡中，这个质子梯度驱动 ATP 的形成。破坏质子梯度的解偶联剂减少了 ATP 的合成。

因此，尽管 Mitchell 的假说最初遇到了相当大的排斥——生化学家希望能找到一种高能的中间物，而并不接受那种难以琢磨的电化学力。但最终积累的实验证据支持细胞能量生成中的化学渗透偶联的重要性是不能被忽视的。Mitchell 于 1978 年获得诺贝尔奖。

14.2.3 电子传递释放大量能量

刚才讲过，那些具有最负的氧化还原电位（E'_0）的化合物对电子有最弱的亲和性，因而也是给出电子的趋势最强的载体。反之，那些具有最正的氧化还原电位的化合物对电子有最强的亲和性，因而也含有接受电子趋势最强的载体。NADH 和 NAD^+ 1∶1 的混合物具有的氧化还原电位是−320 mV，表明 NADH 有一个强的趋势给出电子；而一个 H_2O 和 1/2 O_2 1∶1 的混合物氧化还原电位为＋820 mV，表明 O_2 有很强的接受电子的趋向。两者氧化还原电位之差为 1.14 V(1140 mV)，这意味着在这些标准条件下每一电子从 NADH 传递到 O_2 是极为有利的，这里 $\Delta G^\circ = -26.2$ kcal/mol(每一个 NADH 转移两个电子需−52.4 kJ/mol，见图版 14-1)。如果我们比较这个自由能改变和 ATP 形成磷酸酐键的自由能改变($\Delta G^\circ = +7.3$ kcal/mol，图 13-7)，我们可以看到一个 NADH 分子氧化而释放的能量足以由 ADP 和 Pi 合成几个 ATP

分子。

生命系统肯定已经能进化出一些酶使 NADH 在下列反应中直接提供电子给 O_2 而生成水，反应为：

$$2H^{+}+2e^{-}+\frac{1}{2}O_2 \longrightarrow H_2O$$

由于巨大的自由能下降，这个反应几乎呈暴发性的进行，几乎所有的能量都以热释出。相反，细胞中的在能量方面有利的反应 $2H^{+}+2e^{-}+\frac{1}{2}O_2 \longrightarrow H_2O$ 则以一小步一小步地进行，这样就能把释出的近一半的能量储存起来，而不以热能散失在环境中。

14.2.4 金属紧密地与蛋白质结合，形成多种多样的电子载体

在三个呼吸酶复合物内，电子主要在紧密结合于蛋白质上的金属原子之间移动，从一个金属离子跳到另一个对电子亲和性更强的离子上。相比之下，在不同的呼吸复合物之间，电子的载运依靠沿脂双层扩散的分子来进行。这些分子从一个复合物获取电子并按有规则的序列传给另一个。在呼吸和光合成链中，这样的载体之一是溶在脂双层中的一种疏水小分子**醌**。在线粒体呼吸链中，这种醌称为泛醌。醌是电子传递链中唯一一种不需要与蛋白质紧密结合的电子载体。

泛醌自 NADH 脱氢酶复合物获取电子并将其传送给细胞色素 b-c_1 复合物(图 14-9)。如图 14-19 所示，一个醌(如泛醌)能获取或给出一个或两个电子，并能随着所带的每一个电子自周围获取一个质子，其氧化还原电位为＋30 mV，按能量损失而论，泛醌的位置在这条链的 NADH 下方 1/4 处(图 14-20)。泛醌还能够从柠檬酸循环或者脂肪酸氧化过程中产生的 $FADH_2$ 直接获得电子。因为这些电子绕过了电子传递链中的一个质子泵即 NADH 脱氢酶，这导致它比 NADH 传递的 2 个电子要泵送更少的质子。

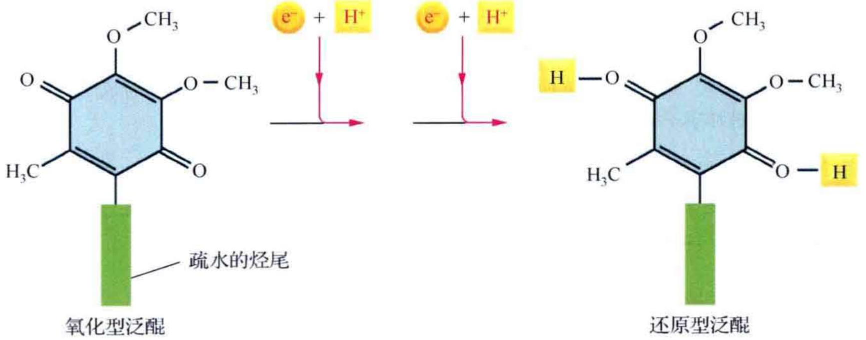


图 14-19 在脂双分子层中，醌类运载电子。在线粒体电子传递链上的醌被称为泛醌。它每接受一个电子便从水环境中获得一个 H^{+}，它能携带两个电子作为氢原子一部分(黄色)。当还原型泛醌将其电子递交给传递链的下一个载体时，这些质子便释放出来。长长的疏水尾部把泛醌限定在膜上，它由 6～10 个五碳的异戊二烯亚基组成，其数目随生物种类不同而不同。

在电子传递链上的所有其他载体都是和蛋白质紧密结合的小分子或者含有金属的基团。在 NADH 和泛醌之间，在 NADH 脱氢酶复合物内，电子在结合于这个蛋白质复合物上的黄素基团(结构见图 13-12)和提升氧化还原电位的一组铁-硫中心间传送。在脱氢酶中最后一个**铁-硫中心**把电子传递给泛醌。

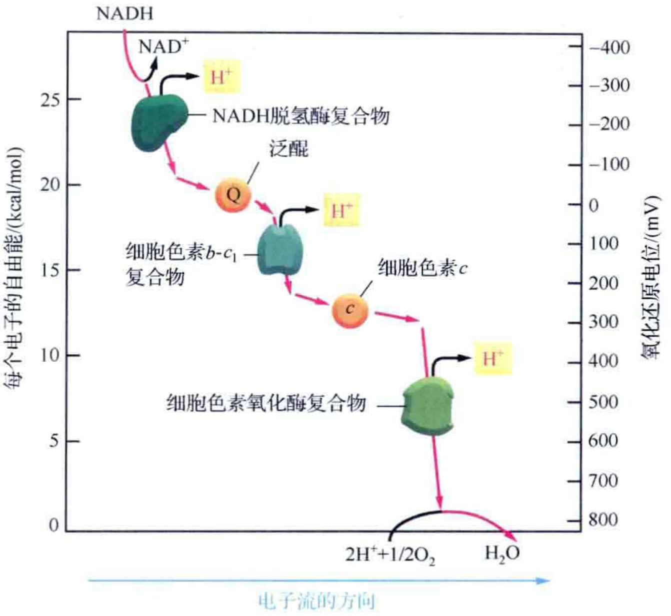


图 14-20　氧化还原电位沿着线粒体电子传递链而增加。穿过每一个呼吸酶复合物时，氧化还原电位都大幅度增加，这是每个呼吸酶复合物泵抽质子所需要的。为了将自由能的数值转化成 kJ/mol，可将 1 kcal 约等于 4.2 kJ 代入换算。

铁-硫中心具有比较低的电子亲和性，因而主要在电子传递链的早期部分存在。其后，从泛醌到 O_2 这段路程中，与细胞色素蛋白紧密结合的血红素基团中的铁原子通常用作电子载体，如同在细胞色素 b-c_1 和细胞色素氧化酶复合物中那样。**细胞色素**（cytochrome）组成色素蛋白家族（其名源于希腊字 *chromo*，颜色），它们都含有一个或多个血红素基团，其中的铁原子每当接受一个电子就从氧化铁（三价铁，Fe^{3+}）转变成亚铁（二价铁，Fe^{2+}）状态。可以预料，在沿线粒体电子传递链下行到氧的途中，不同细胞色素的氧化还原电位是递增的。细胞色素 c 是一种小的蛋白质，它能使电子穿梭于细胞色素 b-c_1 复合物和细胞色素氧化酶复合物之间。细胞色素 c 的结构如图 14-21 所示，其氧化还原电位为 +230 mV。

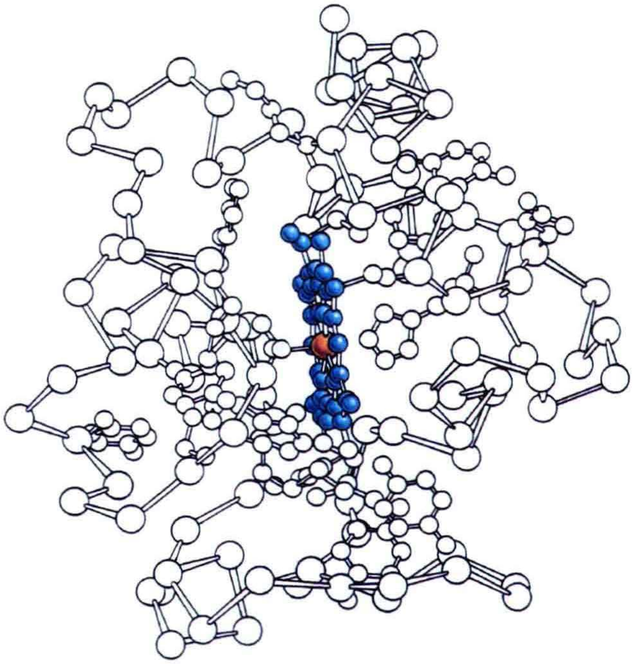


图 14-21　在电子传递链中，细胞色素 c 是一种电子载体。这个小蛋白含有超过 100 个氨基酸，通过离子相互作用而被松散地维系在内膜的外表面上（图 14-9）。在结合的血红素（蓝色）中，铁离子（橙色）能携带一个电子。在血红蛋白中，血红素的结构请参见图 4-33。血红蛋白能够可逆地结合 O_2，而不是电子。

在呼吸链的最末端，即恰好在氧气之前，电子载体就是那些在细胞色素氧化酶复合物中的载体。这里的载体或者是血红素基团中的铁原子，或者是以特定方式紧密地与复合物结合的铜原子，这些结合方式赋予它们一个高氧化还原电位。

14.2.5 细胞色素氧化酶催化分子氧的还原反应

细胞色素氧化酶是一种蛋白复合体，它的功能是从细胞色素 *c* 接受电子，从而氧化细胞色素 *c*(因此被命名为细胞色素氧化酶)。随后，它将这些电子提供给 O_2。简单地说，4 个来自于细胞色素 *c* 的电子以及 4 个来自于水环境中的质子在如下反应中与每个 O_2 分子结合：$4e^- + 4H^+ + O_2 \longrightarrow 2H_2O$。除了与 O_2 偶联的质子以外，还有 4 个质子在电子传递时越过膜进一步增加了电化学质子梯度。

对于主动把质子泵送过膜的蛋白质来讲，蛋白质泵构象的变化必须与一个在能量方面有利的反应偶联。对细胞色素氧化酶来说，能量来自于将一系列的 4 个电子传递至与蛋白紧密结合的 O_2 分子；这些电子传递的过程促进了蛋白构象的变构，从而将质子运出线粒体基质。细胞色素氧化酶在结合 O_2 的活性位点含有一个与紧密结合着的铜原子并列的血红素铁原子的复合物(图 4-22)。就在这里，我们呼吸的所有氧气，几乎都被用作 NADH 在电子传递链开始时所提供的电子的最终储存库。

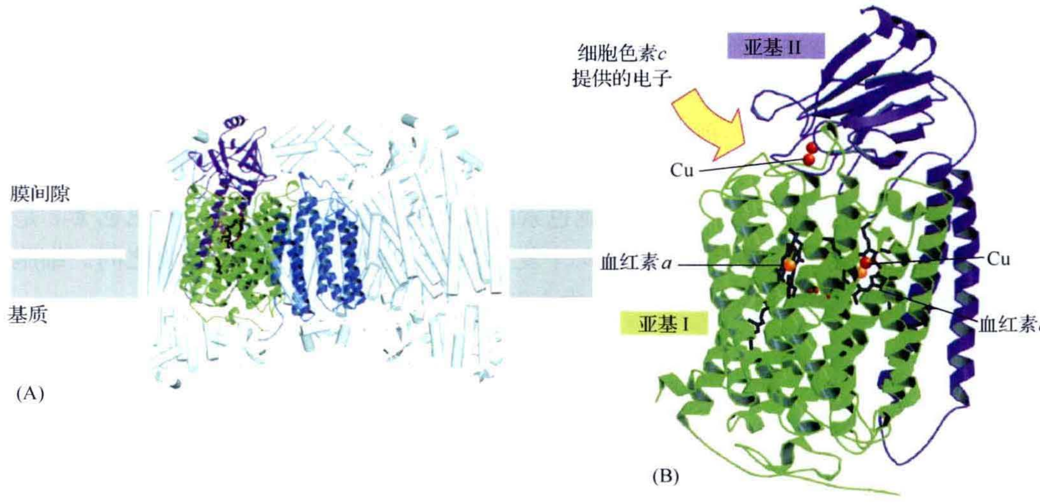


图 14-22 细胞色素氧化酶是一个精细协调的蛋白机器。该蛋白是一个二聚体，每个单体包含 13 种不同的蛋白亚基。形成复合物的功能核心的三个彩色亚基由线粒体基因组编码。当电子被传递给 O_2 分子并通过这个蛋白时，电子使该蛋白泵抽质子过膜。(A) 图中显示的是定位在线粒体内膜上的整个蛋白。(B) 如图所示，电子载体定位在亚基 Ⅰ 和 Ⅱ 上。

氧气由于有很高的电子亲和性，因而作为电子的收集箱是有用的。但一旦 O_2 获得一个电子，就形成超氧化物自由基 O_2^-。这种自由基危险而活泼，并且无论在哪里只要它能找到，它就积极攫取另外三个电子，这种倾向能够对附近的 DNA、蛋白质以及脂膜造成严重的损伤。细胞色素氧化酶的作用之一便是紧紧抓住它的氧分子，直到将其转换为 2 个水分子所需要的 4 个电子都到手为止，从而防止超氧化物自由基对细胞分子的随机攻击——其所产生的损伤被认为是人类产生衰老的原因。

细胞色素氧化酶的演化对于能利用 O_2 作电子受体的细胞的形成是至关重要的，据估算目前它消耗了人体所摄取 O_2 总量的 90%。因此，这个蛋白复合体对于所有的需氧生命来说，都是至关重要的。氰化物和叠氮化物之所以剧毒就是因为它们能够与细胞中的细胞色素氧化酶

复合物紧密结合而中断了电子传递，从而极大地降低了 ATP 的合成。

14.2.6 在原子水平研究 H^+ 泵送机制

电子传递与 H^+ 泵送偶联的具体机制在三种不同的呼吸酶复合体中各不相同。例如，泛醌在质子通过细胞色素 b-c_1 复合体进行泵送时具有重要的作用，这里醌能够从水相基质中获取 H^+ 以及其所携带的每个电子，并在电子释放时也将其释放出来(图 14-19)。醌能够在磷脂双分子层上自由移动，它能够接受膜内表面附近的电子，并将其提供给外表面附近的细胞色素 b-c_1 复合体。因而泛醌每转运一个电子，就能够将一个 H^+ 转运跨过磷脂双分子层。但实际上在细胞色素 b-c_1 复合体中的每个电子使 2 个质子发生了泵送，有充分证据表明在称为 Q 循环的过程中，泛醌以一种复杂但有序的步骤被蛋白复合体重复利用，使得这种 2 对 1 的转运成为可能。

蛋白质构象的变构也能够泵送 H^+。NADH 脱氢酶复合体以及细胞色素氧化酶复合体中，电子传递促使蛋白质发生一系列的变构，从而使其将 H^+ 泵送跨过线粒体内膜。这种类型的 H^+ 泵送的通用机制如图 14-23 所示。

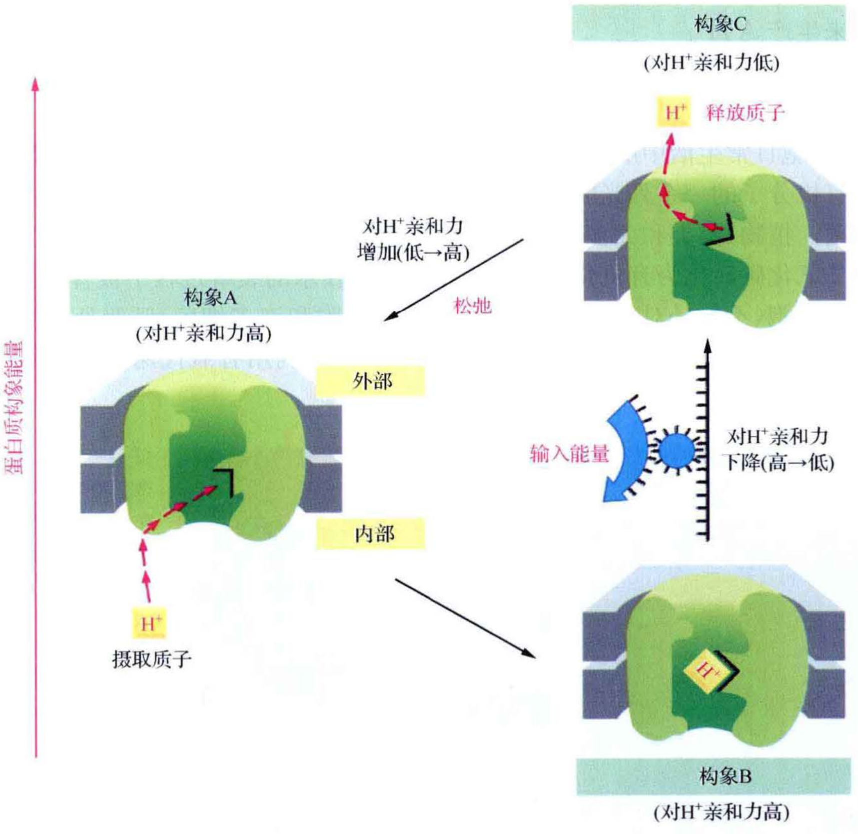


图 14-23 **在由能量方面有利的反应驱动的蛋白质泵中，H^+ 的泵送能够引起构象的变化。**这个通过跨膜蛋白泵送 H^+ 的机理被认为是利用了 NADH 脱氢酶和细胞色素氧化酶以及其他的多个质子泵。蛋白质被三种构象的循环所驱动：A、B 和 C。正如图上所示，这些蛋白构象具有不同的能量。在构象 A 和 B 中，蛋白质对 H^+ 的亲和力高，使其在膜内侧结合一个 H^+。在构象 C 中，蛋白质对 H^+ 的亲和力低，使其在膜外侧释放一个 H^+。从构象 B 转换到释放 H^+ 的构象 C，这在能量方面是不利的。只有当它与发生在该蛋白质另一处的能量方面有利的反应(蓝色箭头)相偶联时，受此驱动，才会发生构象 B 到 C 的转变。对细胞色素氧化酶和 NADH 脱氢酶来说，这个反应是电子传递过程。另外两个构象的变换 A→B 和 C→A 导致较低的能量状态，因而可以自发进行。因为整个循环 A→B→C→A 释放自由能，H^+ 就被从线粒体基质内侧泵出到膜间隙。对于其他的质子泵来说，如肌肉细胞内的 Ca^{2+} 泵，从 B→C 的构象变化所需的能量由 ATP 水解提供(图 12-15)。而对细菌紫膜质来说，这份能量来自于阳光(图 11-28)。

14.2.7 呼吸作用有惊人的效率

脂肪和糖直接燃烧成 CO_2 和 H_2O 时的自由能改变，可以和在相应的生物学氧化过程中产生和储存在 ATP 磷酸键中的能量总量相比较。这样就可以看到氧化能量转化成 ATP 键能的效率通常超过 40%，明显优于绝大多数非生物的能量转化设施的效率。如果细胞只以电动机或汽油发动机的效率(10%～20%)工作，那么一个有机体为维持生命不得不贪婪地进食。而且，浪费的能量以热释出，大型生物一定需要比现有效率更高的散热机制。

学生们有时会想为什么在细胞内的能量互换要遵循这么复杂的途径。糖氧化为 CO_2 和 H_2O 肯定能较为直接地实现，而不需要柠檬酸循环和呼吸链中的许多步骤。这当然会使学生学习呼吸作用这部分内容变得容易一些，但对细胞来说则是一场大灾难了。氧化作用产生的大量自由能，只能以一小份一小份的形式才可被有效地利用。生物氧化作用途径涉及许多中间产物，每一个比前一个只相差一点点。因而能量释放分成一小份一小份，它们借耦合反应能被有效地转化为有用分子如 ATP 和 NADH 中的高能键(图 13-1)。

了解了线粒体内化学渗透偶联如何被用于生产 ATP 后，现在我们再来看看在叶绿体中如何利用光能来生产 ATP。

14.3 叶绿体与光合作用

实际上，细胞日常生活中所需的全部有机物质均由**光合作用**所产生，即通过从大气中的二氧化碳生成有机分子的一系列光驱动的反应来实现的。进行光合作用的生物包括植物、藻类和多种光合细菌。植物、藻类和大多数发达的光合细菌如蓝细菌，利用水分子中的电子和太阳能将大气中的二氧化碳转化为有机化合物。大量的氧气在水的裂解过程中被释放到大气中，这些氧气然后又是细胞(不仅是对动物细胞，也包括植物细胞和许多细菌)呼吸所需要的。因此，早期的光合细菌的活动使大气层中充满了氧气，这为演化出利用有氧代谢生成 ATP 的生命形式奠定了基础(图 14-24)。

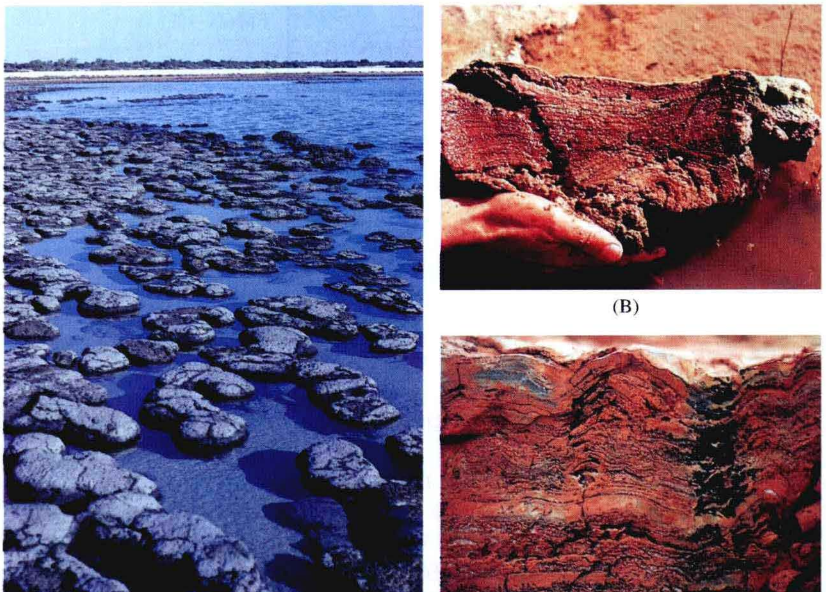


图 14-24 进行产氧光合作用的微生物改变了地球的大气。(A) 在澳大利亚西部盐湖中的活的叠层石。这些结构是在特定条件下形成的，由产氧光合作用的蓝细菌的大片菌落产生出一层层连续的物质。(B) 现代叠层石的横切面，显示片层结构。(C) 一块 35 亿年前的岩石中叠层石的化石横切面。请注意其片层结构与(B)相似。化石叠层石被认为是由与现代蓝细菌非常相似的光合细菌形成的。这些细菌释放出光合作用的产物 O_2，这样的活动想必曾经慢慢地改变地球的大气。(图 A 承蒙 Sally Birch 惠许，并获 Oxford Scientific Films 版权许可；图 B 和 C 蒙 S. M. Awramik, University of California/Biological Photo Service 惠许)

在植物中，光合作用是在一种特化的细胞器**叶绿体**中进行的，它含有能够捕获光的色素如绿色的叶绿素。植物中所有的绿色部分都含有叶绿体，但对于绝大多数植物来说，叶是主要的进行光合作用的部位。当白天光照的时候，叶绿体进行光合作用从而产生 ATP 和 NADPH，然后利用它们把二氧化碳转变成叶绿体中的糖。因此，我们对于光合作用的讨论从这种特化的细胞器的结构说起。

14.3.1 叶绿体与线粒体相似但有一个额外的区室

叶绿体通过质子梯度进行能量转换的方式与在线粒体中所进行的方式非常相似。虽然叶绿体比较大一些(图 14-25A)，但它们按相同的原则构成。它们有一层高度可渗透的外膜，一层很不容易渗透的内膜，膜转运蛋白埋在该内膜中，内、外膜以及膜间狭窄的膜间隙加在一起形成了叶绿体的被膜(图 14-25B)。内膜围绕着的一个很大空间称为**基质**(stroma)，类似于线粒体基质并且含有很多代谢酶。

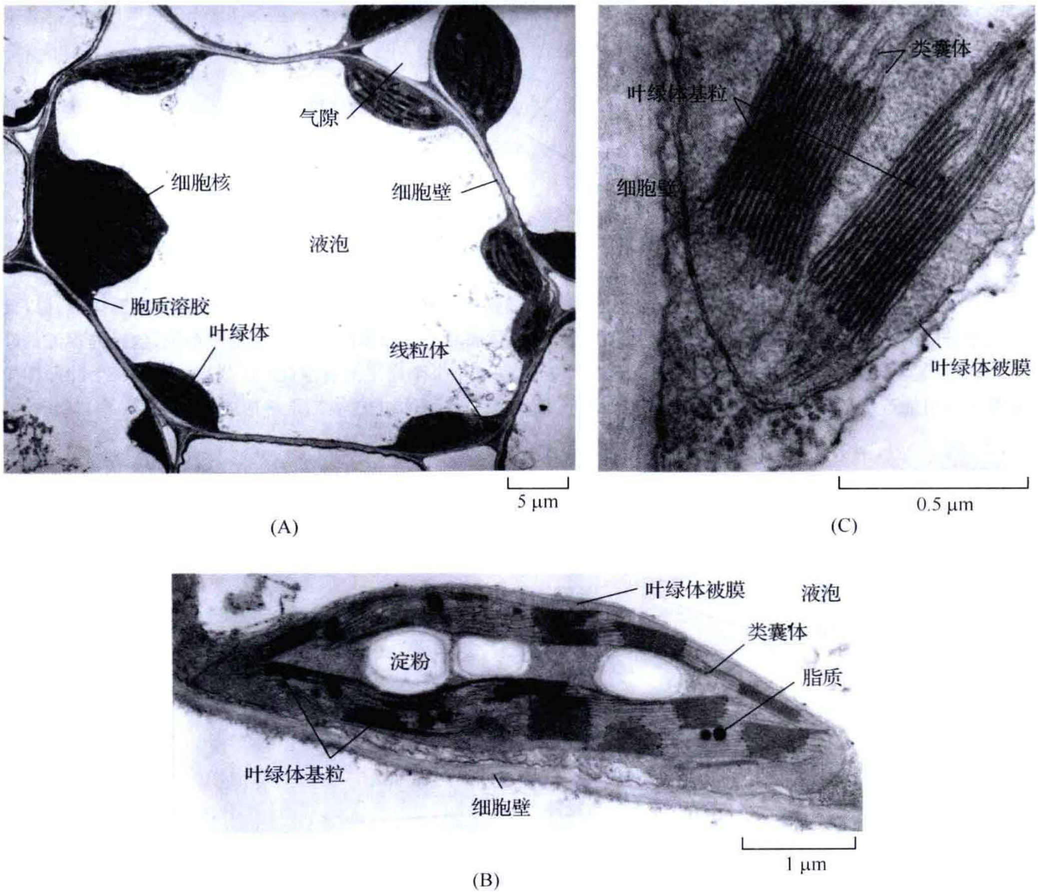


图 14-25 光合作用发生在线粒体中。电镜照片显示叶绿体的结构。(A) 在一个小麦叶片细胞中，围绕着一个大液泡的细细一薄层细胞质中含有细胞核、叶绿体和线粒体。(B) 单个叶绿体的薄切片，显示叶绿体被膜、淀粉粒以及在那里作为生物合成结果而积累在基质中的脂质(脂肪)小滴。(C) 两个叶绿体基粒的高倍放大图像；叶绿体基粒这个名称是指一叠类囊体。(蒙 K. Plaskitt 惠许)

然而，线粒体和叶绿体之间有着一个重要的区别，即叶绿体内膜中没有电子传递链。取而代之的是它的捕光系统、电子传递链和 ATP 合成酶都在第三层膜即类囊体膜中。类囊体膜形

成一种扁平的盘状囊即类囊体(图 14-25C)。它们叠成整齐的堆状,每个类囊体中的腔与其他类囊体的腔相连通,因此将其定义为第三种内部区室,靠类囊体膜与基质隔开(图 14-26)。线粒体与叶绿体结构上的异同之处见图 14-27。

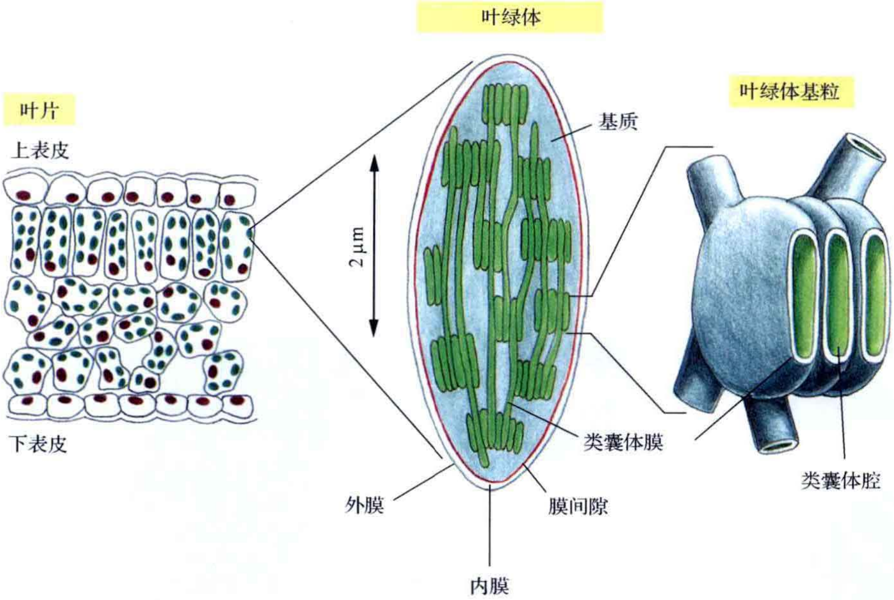


图 14-26 **叶绿体含有第三个内部区室。**这个光合作用的细胞器含有三种不同的膜(外膜、内膜和类囊体膜),以此确定三个分隔的内部区室(膜间隙、基质和类囊体腔)。类囊体膜具有叶绿体的全部能量生产系统,包括捕捉光的叶绿素。在电子显微镜下,这种膜呈现为散开的分离单位,包裹着一个个扁平的囊泡(图 14-25C),而在每个叶绿体中这些囊泡很可能连成单独一个高度折叠的膜。如图所示,一个个类囊体相互连接,堆叠形成基粒。

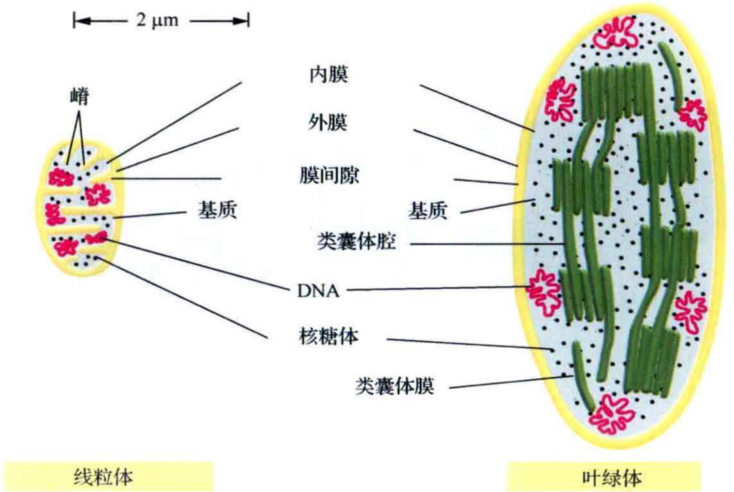


图 14-27 **叶绿体比线粒体大很多,还有一个额外的区室。**除了内膜和外膜之外,叶绿体含有包围类囊体腔的类囊体膜。类囊体膜含有捕光系统、电子传递链和 ATP 合成酶。与叶绿体内膜不同的是,线粒体内膜为了增加其表面积而折叠形成嵴。正如我们在下一章中要讨论的那样,这两种细胞器都含有它们自己的基因组和遗传系统。因此,正如线粒体基质那样,叶绿体的基质也含有一套特殊的核糖体、RNA 和 DNA(红色)。

14.3.2 叶绿体从阳光捕获能量用以固定碳

如我们在第 3 章中所述，光合作用净结果可以用下式概括：

$$光能 + CO_2 + H_2O \longrightarrow 糖 + O_2 + 热能$$

虽然该式相当简单，但实现这个过程的反应是相当精细的。一般来说，不管植物中的光合作用发生了多少个反应，都可以归为两大阶段（图 3-8）。

（1）在第一阶段中，所有的反应依赖于光，从阳光获得的能量被捕获并临时储存在 ATP 的高能键中以及活化的载体分子 NADPH 中。这些产能的光合电子传递反应，也称为光反应，完全在叶绿体的类囊体膜中进行。在这一系列的反应中，来源于阳光的能量使绿色有机色素**叶绿素**中的电子充能，使其沿着类囊体膜中的电子传递链传递，类似于线粒体中电子沿着呼吸链传递。叶绿素提供给电子传递链的电子最终被水分子中获取的电子所替代。这个电子的传递将水分子（H_2O）分解，产生了副产物 O_2。在电子传递的过程中，H^+ 穿过类囊体膜，从而产生电化学质子梯度以驱使基质中的 ATP 合成。在这一系列反应的最终步骤，高能电子（与 H^+ 一起）为 $NADP^+$ 所接受，形成 NADPH（图 14-28）。

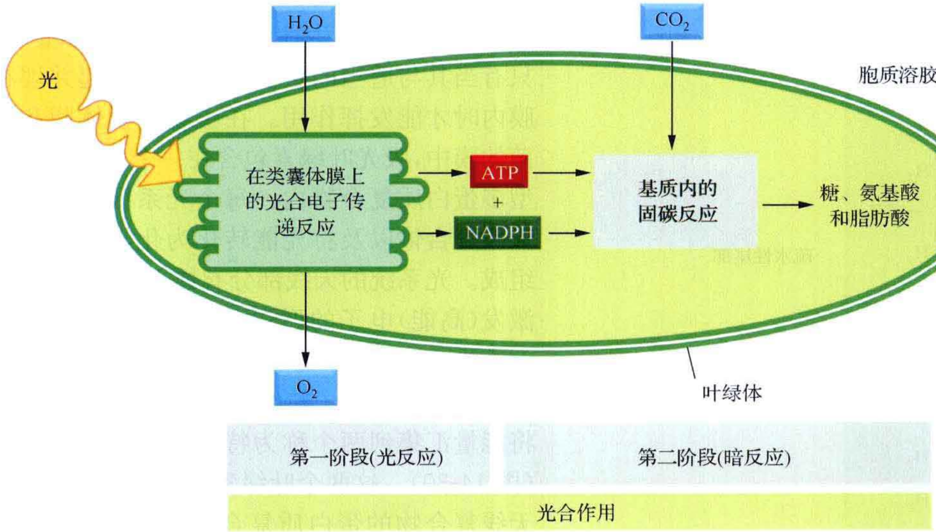


图 14-28 光合作用的两个阶段都依赖于叶绿体。在制造 ATP 和 NADPH（第一阶段）的光合电子传递反应中，水被氧化并释放出氧气，同时二氧化碳被同化（固定），并在碳固定反应（第二阶段）中产生糖和大量其他的有机分子。第二阶段的反应开始发生在叶绿体基质（如图所示），并在胞质溶胶中继续。

（2）光合作用的第二阶段不依赖于光，在这个阶段中，光合电子传递反应所产生的 ATP 和 NADPH 分别作为相应的能量源以及还原力，驱使 CO_2 合成糖（图 14-28）。这些固碳反应，也称为暗反应，起始于叶绿体基质中，并在植物细胞的胞质溶胶中继续进行。他们在植物叶子中合成了蔗糖以及很多其他的有机分子。这些蔗糖随后作为有机分子以及能量被输运至其他的组织中用以生长所需。

因此，ATP、NADPH 和 O_2（直接需要光能）的形成与 CO_2 向糖的转化（仅间接需要光能）是分别进行的，尽管复杂的反馈机制连接着这两者。例如，一些碳固定反应所需的叶绿体酶在暗反应中失活，而在光激发的电子传递过程被重新激活。

14.3.3 叶绿素分子吸收光能

可见光是由多种不同波长组成的电磁辐射，这些波长的范围从紫色（波长 400 nm）到深红

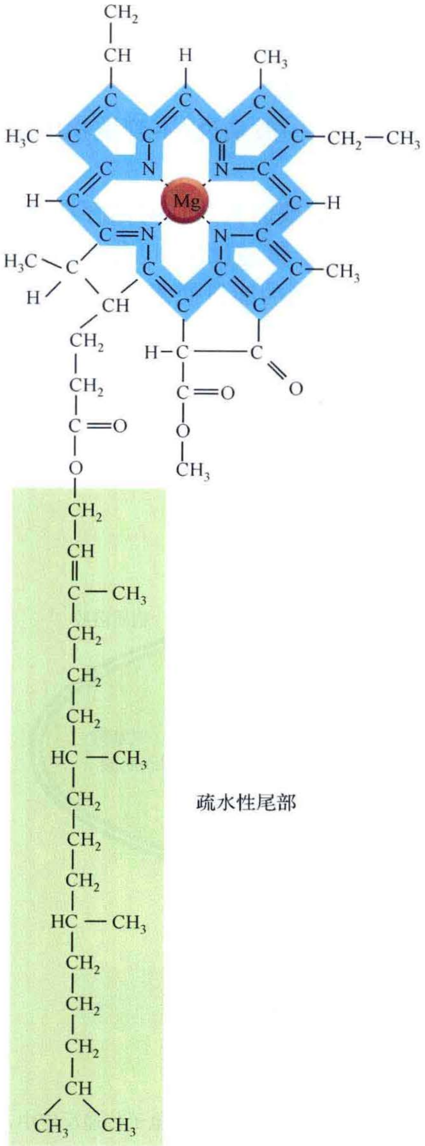


图 14-29　叶绿素是一个绿色的色素，能够吸收来自光子的能量。一个镁原子（橙色）结合在卟啉环中心，它在结构上与血红素中结合铁原子的卟啉环相似。光被用蓝色表示的键网中的电子吸收，而长长的疏水性尾部（绿色）则有助于叶绿素保持在类囊体膜中。

色（波长 700 nm）。当我们以单分子水平即从一个叶绿素分子的吸光作用来考虑问题时，我们有必要把光想象成是由很多分散的能量小包（称作光子）所构成的。不同颜色的光其光子的能量不同，波长长的光子能量较低。因此，红光光子比绿光光子能量低。

当日光被一个绿色色素叶绿素分子吸收时，这个分子中的电子与光中的光子相互作用，从而使电子被提升到较高的能级。在叶绿素分子中，电子在叶绿素分子内大范围的单键和双键交错着的网络（图 14-29）中以对红光的吸收为最强，这也是为什么叶绿素在我们看来是绿色的。

14.3.4　激活的叶绿素分子把能量汇集到一个反应中心

一个被分离出来的叶绿素分子是不能将它所吸收的光转化成生命系统可利用的能量形式的。只有当其与适当的蛋白质结合在一起并埋在一种膜内时才能发挥作用。在植物类囊体膜和光合细菌的膜中，吸光叶绿素包含在一个称作**光系统**的大型多蛋白质复合物内。每个光系统由捕获光能的**天线复合体**以及将光能转化为化学能的**反应中心**组成。光系统的天线部分有数百个叶绿素分子，以激发（高能）电子的形式捕获光能。这些叶绿素是有序排列着的，所以一个受激发的电子的能量能够从一个叶绿素分子转给另一个叶绿素分子，并最终将能量汇集到两个称为特殊偶对的叶绿素分子上（图 14-30）。这两个叶绿素分子位于膜内一个毗邻天线复合物的蛋白质复合物——反应中心里。在那里，能量被捕获并专一性用于在特殊的一对叶绿素分子中激发一个电子。

反应中心是蛋白质和有机色素跨膜的复合物，居于光合作用的中心位置。它被认为是早在 30 亿年前由原始光合细菌首先进化而来的。详细的结构和功能研究已揭示了它在原子水平是如何具体工作的（视频 14.6）。反应中心对于一个已受激发的电子而言，起着一个单向活门的作用，因为叶绿素特殊对随时准备把一个高能电子传送给精确定位于同一蛋白质复合物内的毗邻分子。通过将受激发的电子从叶绿素迅速移出（该过程称为电荷分离），反应中心将该电子传递至一个使它稳定得多的环境中。当反应中心中的叶绿素分子失去电子后，它带有正电荷，然后它从邻近的电子供体中获得电子回复到未受激发的不带电状态（图 14-31A）。然后，在一些较缓慢的反应中，这个电子供体又从水中获得一个电子而再生，同时由激活的叶绿素所产生的一个高能电子被转移到电子传递链。这种传递使反应中心空出位置以接受下一个被阳光激活的高能电子。

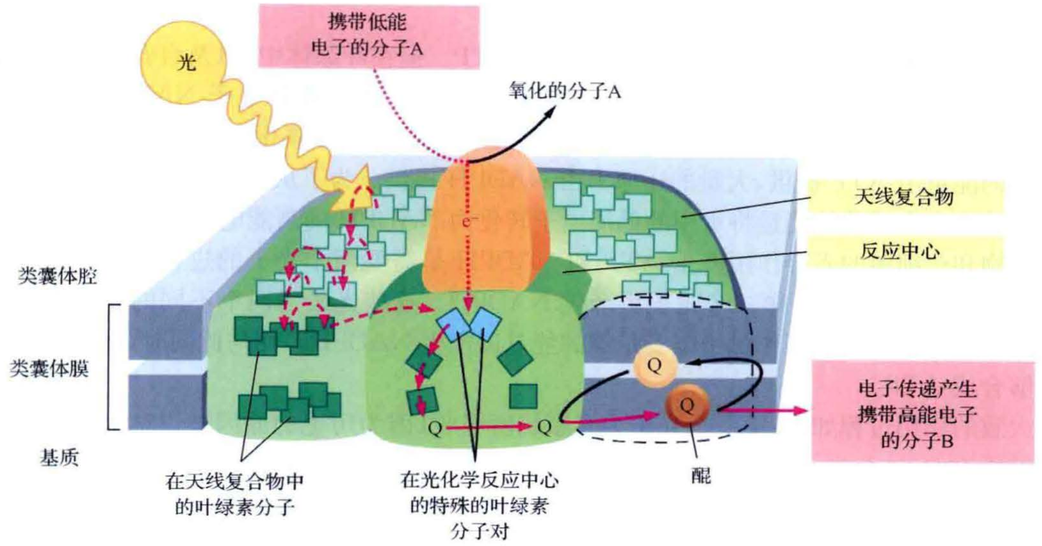


图 14-30　光系统含有一个反应中心和一个天线。天线收集被光激发的电子能量，并将这份能量（能量传递用红色虚线箭头表示）聚集到在反应中心的叶绿素特殊分子对。这就在这一特殊分子对中产生了一个高能电子，可通过醌（Q）被迅速地传送到（电子传递用红色实心箭头表示）类囊体膜中的电子传递链中。除了叶绿素、天线复合物还含有额外的辅助色素（图中未显示），帮助捕捉不同波长的光能。正如我们将在图 14-31 所看到的那样，在反应中心中（橙色）的蛋白收集低能电子，这些电子是将光系统恢复到未激发状态所必需的（电子传递用红色点状箭头表示）。

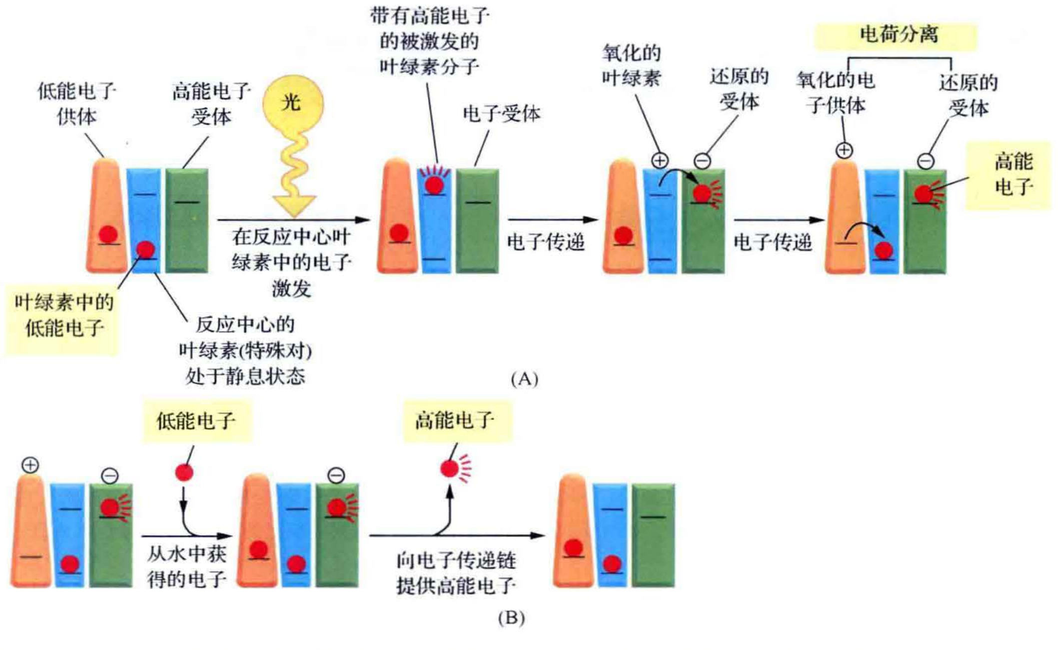


图 14-31　反应中心的叶绿素分子获取光能。（A）特殊对（蓝色）中的两个叶绿素分子紧密地结合在一个色素-蛋白复合物中，如此定位使得一个收集低能电子（橙色）的蛋白和一个高能电子受体（绿色）都能被利用（图 14-30）。一旦叶绿素中的电子（红色）被光能激发，它就会被迅速传递到反应中心的电子受体上，并稳定地成为高能电子。之后，带正电的、氧化的叶绿素分子迅速地从电子供体上吸收一个低能电子，因而回到静息状态。这些反应在电子供体和受体之间产生电荷分离，只需不到10^{-6} s即可完成。（B）在接着（A）中各步骤发生的是该过程的最后阶段，通过激发一个新的低能电子（来自于水）并将高能电子传递给电子传递链，整个反应中心又重新恢复到初始状态。因此，整个过程消耗了从水中获得的低能电子，并在植物的类囊体膜中产生了高能电子。

14.3.5 光能驱动 ATP 和 NADPH 的合成

在线粒体中，电子传递链单独发挥功能产生 ATP。但在叶绿体中，以及自营的光合生命体(如蓝藻)中，电子传递还有额外的功能：它还能够产生活化的载体分子 NADPH(图 3-34)。NADPH 很重要是因为光合作用本质是一个生物合成过程。从二氧化碳合成有机分子，细胞需要大量的能量由 ATP 提供，大量的还原力由 NADPH 提供。为了从 $NADP^+$ 生产 NADPH，细胞利用从阳光中捕获的能量将水中的低能电子转化为 NADPH 的高能电子。

植物和蓝细菌的光合作用产生 ATP 和 NADPH 是需要两个光子的过程。吸收了第一个光子后产生 ATP，吸收了第二个光子后产生 NADPH。这些光子为两个不同的光系统所依次吸收。这些光系统共同工作赋予电子足够的能量以产生 NADPH。而与此同时，产生的质子梯度能够合成 ATP。

大致的作用过程如下：第一个光子为光系统所吸收(因为历史的原因被误称为光系统Ⅱ)。如先前所讲的，这个光子被用于产生一个高能电子，输送给电子传递链(图 14-31)。在沿电子传递链下行进程中，如先前讲过氧化磷酸化的方式，电子驱动类囊体膜内的一个氢离子泵，建立一个质子梯度。然后，类囊体膜上的一个 ATP 合成酶利用此质子梯度驱动在膜的基质一侧合成 ATP(图 14-32)。

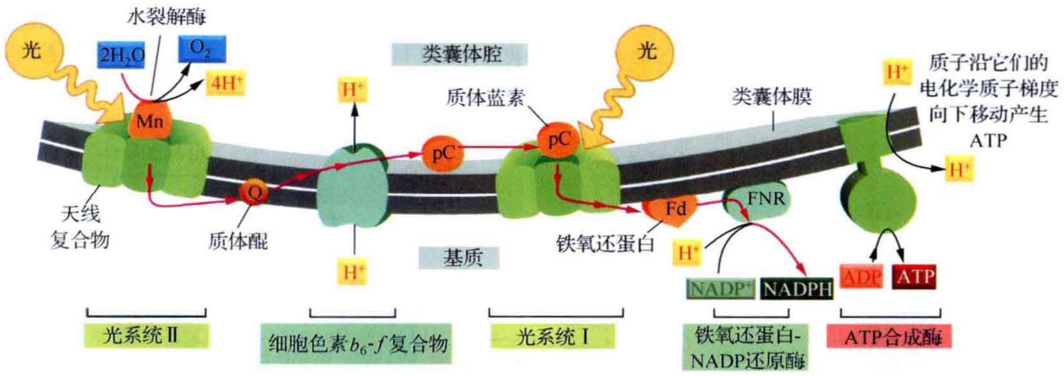


图 14-32 **在光合作用中，电子沿着类囊体膜上的电子传递链移动。** 光能被嵌在膜内的光系统中的天线复合物捕获，并被聚集到位于反应中心的叶绿素分子特殊对。正如图 14-30 所示，在该特殊对产生了一个激发的高能电子。该高能电子在传递到叶绿体膜上的电子传递链之前，先通过位于反应中心内的一系列电子受体发生传递。在叶绿体的电子传递链中，移动的电子载体是质体醌(Q，它与线粒体的泛醌极为相似)、质体蓝素(pC，一种小型的含铜蛋白质)和铁氧还蛋白(Fd，一种含有铁-硫中心的小型蛋白质)。细胞色素 b_6-f 复合物与线粒体的细胞色素 b-c_1 复合物相似，它是叶绿体电子传递链中唯一的主动泵送质子的位点。通过光系统Ⅱ裂解水而被释放出来的 H^+、在 NADPH 形成时通过铁氧还蛋白-NADP 还原酶(FNR)而摄取的 H^+(它是电子传递链中的最后一个蛋白质)，它们都对电化学质子梯度的形成作出了贡献。如图所示，质子梯度驱动定位在同一膜上的 ATP 合成酶生产 ATP。有关光合反应的概述请参阅视频 14.7。

与此同时，电子传递链将光系统Ⅱ产生的电子传递至通路中的第二光系统(称为光系统Ⅰ)。在那里，电子填补反应中心内的一个带正电的“空穴”。这个“空穴”是由于吸收第二个光子而导致一个电子离开该中心而造成的。因为光系统Ⅰ被设计为在一个较光系统Ⅱ高的能量水平上启动，因而它能够将电子提升到一个用 $NADP^+$ 合成 NADPH 所需的非常高的能级(图 14-32)。电子传递链各组分的氧化还原电位如图 14-33 所示。

迄今所描述过的全部过程中，从光系统Ⅱ反应中心叶绿素分子中迁出的一个电子通过类囊体膜上的电子传递链最终提供给了 NADPH。这个原初的电子必须被替代，以使这个系统回到

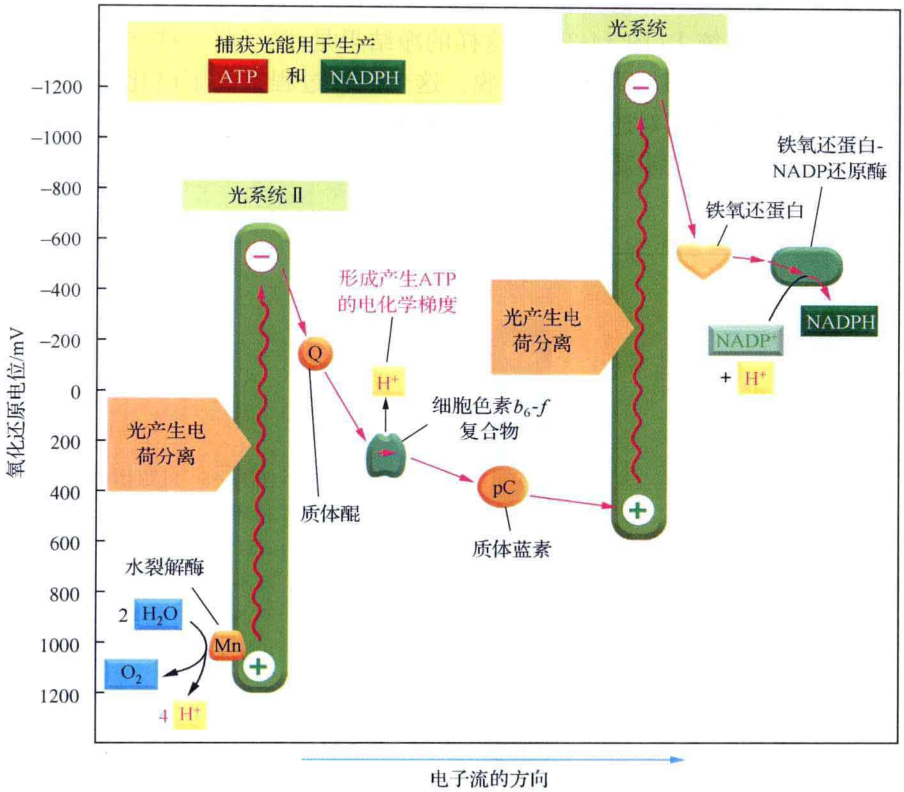


图 14-33 光系统Ⅰ和Ⅱ的偶联推动电子到达能够产生 NADPH 的能量水平。每个分子的氧化还原电位均由其在纵轴上的位置表示。通过类囊体膜中引向光系统Ⅰ的电子传递链，光系统Ⅱ传送来自其激发态叶绿素分子特殊对的电子。通过这两个串联的光系统，净电子流从水流向 $NADP^+$，并产生 NADPH 和 ATP。ATP 由 ATP 合成酶(图中未显示)来合成，它利用电子传递所产生的电化学质子梯度。

原来的非激发状态。这种置换的电子来自于一个低能电子供体，在植物和许多光合细菌中该供体是水(图 14-31B)。光系统Ⅱ的反应中心包括一个水裂解酶，这种酶将两个水分子中的氧原子拉拢并结合在蛋白质中的一簇锰原子上(图 14-34，图 14-32)。这种酶将每次从水中移出一个电子填补由光在反应中心叶绿素分子中造成的空穴。一旦从两个水分子中移出 4 个电子(需要 4 个光子)，就放出氧气。这就是进行了几十亿年的地球大气中所有氧气产生的过程。

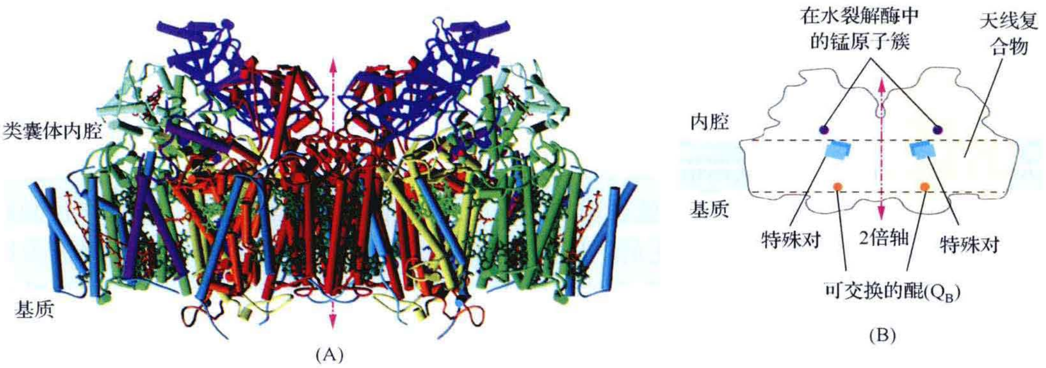


图 14-34 人们已经获知光系统Ⅰ和Ⅱ的完整的三维结构。图中显示光系统Ⅱ的结构，它是一个含有 20 多种蛋白质和几十种叶绿素的二聚体复合物。(参阅 K. N. Ferreira et al., *Science* 303:1831-1838, 2004. 并获 AAAS 版权许可)

14.3.6 叶绿体能够调节自身的 ATP 合成

除了目前所描述的光合作用过程，叶绿体还能够在不产生 NADPH 的情况下合成 ATP。为了合成这种额外的 ATP，叶绿体能够使光系统Ⅰ切换成一个**循环光合磷酸化**模式，在这个过

程中光系统Ⅰ激活的高能电子被传递回细胞色素 b_6-f 复合体而不是传递至 $NADP^+$。b_6-f 复合体再将低能级的电子传递回光系统Ⅰ(图 14-35)。这样的净结果是，除了将一些光能转化为热量以外，电子通过 b_6-f 复合体时将 H^+ 泵过类囊体膜。这个循环过程提高了电化学质子梯度，从而驱使 ATP 的合成。细胞可根据对还原力(以 NADPH 的形式)和高能磷酸键(以 ATP 的形式)的需要调节循环光合磷酸化(只涉及光系统Ⅰ)以及非循环形式的磷酸化(涉及光系统Ⅰ和光系统Ⅱ)的相对量。

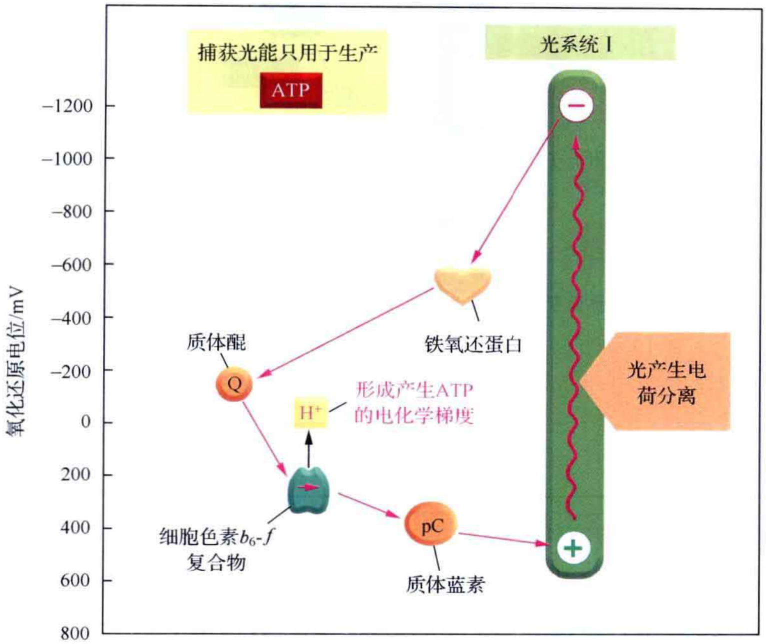


图 14-35 叶绿体也能够通过环式光合磷酸化产生 ATP。这条途径生产 ATP，却不产生 NADPH 或 O_2。当 NADPH 积累时，细胞倾向于采用这个环式的流程。

14.3.7 使用 ATP 和 NADPH 进行碳固定以将 CO_2 转化为糖

光合作用的光反应在叶绿体基质中产生 ATP 和 NADPH。但是叶绿体的内膜对这两种化合物都是不通透的，这意味着它们并不能被直接输运至胞质溶胶中。为了能给细胞中的其他部位提供还原力和能量，ATP 和 NADPH 在叶绿体基质中被合成为糖类，从而能够被直接输运至胞质中。这个在光合作用暗反应过程中发生的糖合成称为**碳固定**。

光合作用的碳固定中心反应如图 14-36 所示，其中一个无机碳原子(如 CO_2)被转换为有机碳。大气中的二氧化碳与五碳糖衍生物*核酮糖-1,5-二磷酸*结合，再加上水，生成 2 分子的三碳化合物 3-磷酸甘油酸。这种 1948 年就发现的固碳反应，是由叶绿体基质中一种叫作*核酮糖二磷酸羧化酶*(RuBisCO)的大型酶催化的。因为与其他大多数酶相比，它的作用过程极为缓慢(与一种典型的、每秒钟作用 1000 个分子的酶相比，它每秒只作用 3 个底物分子)，需要的酶分子很多。核酮糖二磷酸羧化酶往往占叶绿体总蛋白质量的 50%以上，被广泛认为是地球上丰度最高的蛋白质。

当糖被氧化成二氧化碳和水的时候，会释放出大量的自由能。显然，逆反应，即二氧化碳与水化合形成糖在能量方面是极为不利的。为了进行这个反应，必须将它偶联至一个在能量方面有利的能驱动它的反应。最初固定二氧化碳的反应在能量方面实际上是有利的，就是因为它能得到源源不断的富能的化合物——加有一分子 CO_2 的核酮糖-1,5-二磷酸的供给(图 14-36)。这种化合物赖以再生的精细的代谢途径需要光合作用光反应产生的 ATP 和 NADPH。

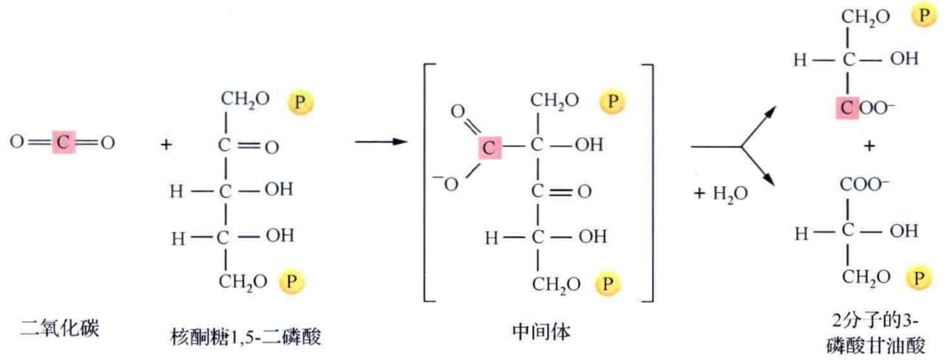


图 14-36　碳固定包括形成把二氧化碳连接到核酮糖 1,5-二磷酸的共价键。在叶绿体基质中，该反应被含量丰富的核酮糖二磷酸羧化酶催化。如图所示，其产物是两分子的 3-磷酸甘油酸。

这一系列的反应使细胞能够将二氧化碳合成为糖，它们形成了一个循环过程始于并结束于核酮糖-1,5-二磷酸(图 14-37)。每当 3 个二氧化碳分子进入该循环，就产生一个新的甘油醛-3-磷酸分子，这种三碳糖是该循环的净产物。同时需消耗三个 ATP 分子和两个 NADPH 分子。这种糖然后又被用于其他许多糖和有机分子的合成。这种碳固定循环(或称卡尔文循环)在 20 世纪 40 年代和 50 年代被发现，是放射性核素在生物化学上首次作为示踪物成功运用的范例之一。

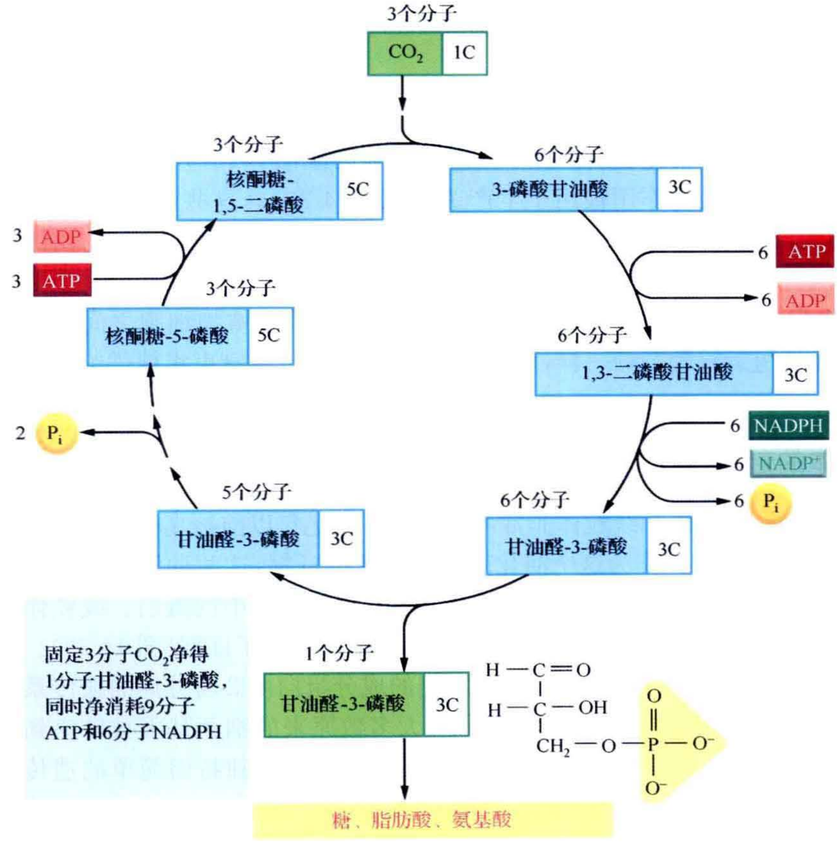


图 14-37　从 CO_2 和 H_2O 形成有机分子的固碳循环。图 14-36 标示了该循环开始的反应，最终产生甘油醛-3-磷酸。每一类型分子中的碳原子数均在白框中标出。在甘油醛-3-磷酸和核酮糖-5-磷酸之间有许多中间体，为简明起见，在这里省略了。水进入该循环的入口也未标出。

14.3.8 碳固定作用产生的糖可以以淀粉形式储存或消耗用以产生 ATP

叶绿体中碳固定作用产生的甘油醛-3-磷酸可根据植物的需要在多种途径中被使用。在光合能力过剩期间，留在叶绿体中的甘油醛-3-磷酸主要被转化为基质中的淀粉(图 14-38)。像动物细胞中的糖原那样，淀粉是葡萄糖的一种巨大聚合物，作为一种糖储备物以大颗粒形式产生并储存在叶绿体基质中(图 14-25B)。在夜间，淀粉被分解成糖以维持植物代谢的需要。淀粉成为所有素食动物的食物的重要部分。

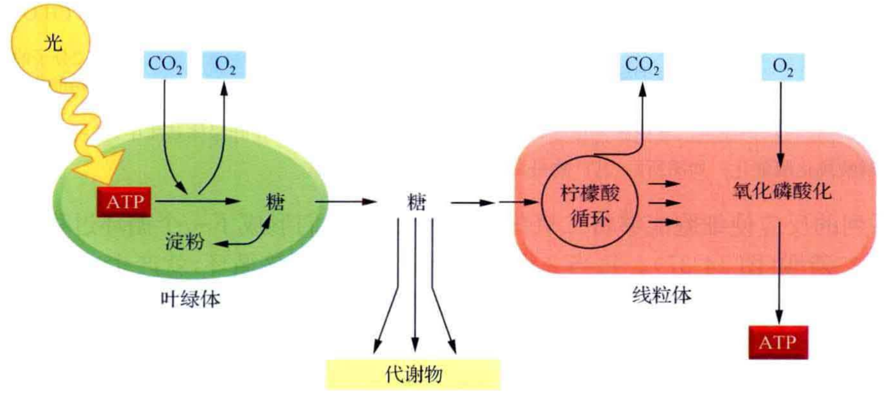


图 14-38 在植物中，叶绿体和线粒体相互协作向细胞供应代谢物和 ATP。叶绿体内膜对光合作用光反应产生的 ATP 和 NADPH 不能通透。因而，这些分子被聚集到碳固定循环，在那里它们被用来生成糖。所生成的糖既可以以淀粉的形式被储存在叶绿体中，又可以输出到植物细胞的其他部位。在那里，它们能够进入线粒体内的产能途径，其结果是合成 ATP。如图所示，线粒体膜对 ATP 是通透的。

叶绿体并不仅是一个储存的容器。叶绿体中产生的大多数甘油醛-3-磷酸输出叶绿体进入胞质溶胶。其中一些进入了糖酵解途径(图 13-5)，被转化为丙酮酸，然后在植物细胞的线粒体中进入柠檬酸循环经氧化磷酸化作用被用于生产 ATP(图 14-38)。这些 ATP 被植物用于基本的新陈代谢，它们的产生过程和在动物细胞以及其他非光合生物中一样，在线粒体中合成。

甘油醛-3-磷酸也转化为许多其他代谢产物，包括双糖*蔗糖*。蔗糖是植物细胞之间糖运输的主要形式：就像在动物血液里运输葡萄糖一样，蔗糖从叶中输出，通过维管束将糖供给植物的其他部分。

14.4 线粒体和叶绿体的起源

目前被广泛接受的观点是，叶绿体和线粒体非常可能是由十几亿年以前被真核细胞祖先吞并的细菌演化而来(图 1-19，图 1-21)。作为这个演化事件所遗留的证据，这两种细胞器都含有它们自身的基因组，以及它们自身的生物合成元件可合成 RNA 和细胞器中的蛋白。线粒体和叶绿体通过本身生长和分裂来增殖的方式也为它们起源于细菌祖先提供了证据(图 14-39)。

线粒体和叶绿体的生长和增殖的过程是很复杂的，它们的成分蛋白由 2 套分离的遗传系统编码，一套在细胞器中而另一套在细胞核中。在线粒体中，大多数原来的细菌基因被转座到了细胞核，只在线粒体中留下了比较少的基因。事实上，动物线粒体具有其独特而简单的遗传体系：例如，人的线粒体基因组 DNA，只有 16 569 个核苷酸对，编码 37 个基因。大多数线粒体蛋白质，包括那些为制造线粒体 RNA 聚合酶、核糖体蛋白和柠檬酸循环中全部酶，都已由细胞核基因生产。这些蛋白质因而必须从合成它们的胞质溶胶中运入线粒体(第 15 章中将讨论)。

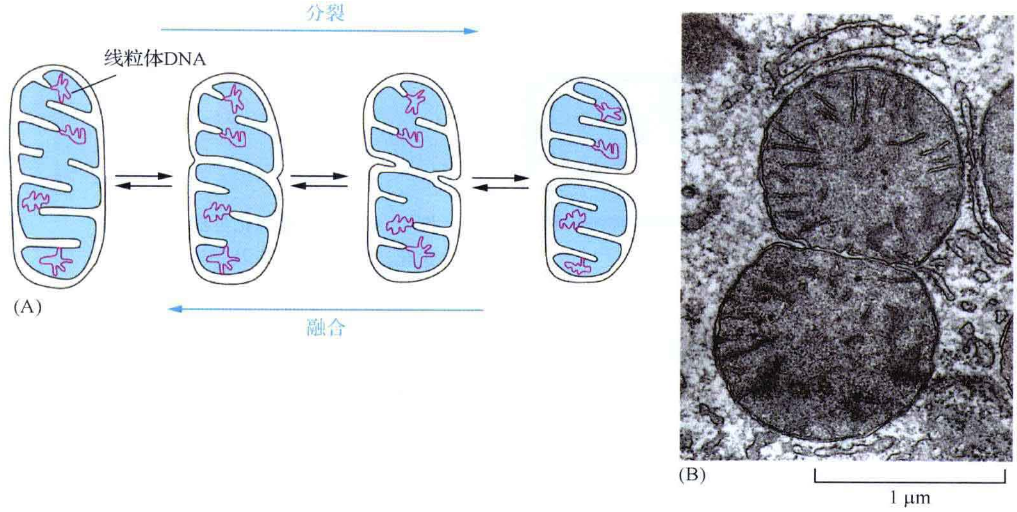


图 14-39　一个线粒体像细菌那样地分裂。(A) 人们观察到线粒体分裂和融合的发生。在概念上，线粒体的分裂过程类似于细菌的分离过程。(B) 一个肝细胞中正在分裂的线粒体的电镜照片。(图 B 蒙 Daniel S. Friend 惠许)

和线粒体一样，叶绿体也含有许多它们自己的基因，以及为这些基因生产蛋白质所需的一整套转录和翻译系统。叶绿体基因组比线粒体基因组大得多，例如，在高等植物中，叶绿体基因组含有约 120 000 碱基对编码的 120 个基因，这些基因与被认为是它们祖先的蓝细菌基因惊人地相似。但即使如此，像许多线粒体蛋白那样，现在许多叶绿体蛋白也由核基因编码并必须从胞质溶胶输入。

我们分析线粒体和叶绿体基因组的技术同样也可以用于鉴定和探索地球上很多微生物的分子生物学机制，其中的一些繁盛地生活在地球上最不适宜生存的环境中。这包括含硫的热泉中以及深海海床的温泉出口热水中。通过这些看上去非常奇怪的现代生命，我们能够在它们所产生的许多分子中发现生命的历史足迹。就好像是犯罪现场留下的指纹一样，这些分子提供了强有力的证据，透过它们我们能够去追溯远古事件的历史，推测目前线粒体和叶绿体中的 ATP 合成系统的起源。因此我们以讨论能量获取系统的演化来结束本章。

14.4.1　氧化磷酸化可能为古细菌提供了进化优势

就如我们开始所述，地球上最早的细胞——原核生物和原始真核生物——是通过消耗地质化学所产生的有机分子以及发酵作用产生 ATP 分子的。因为那个时候大气层中还没有氧气，这样的厌氧发酵反应会将有机酸——如乳酸或甲酸——排放至环境中(图 13-4A)。

这些分泌的有机酸会降低环境的 pH，因而那些演化出具有可将 H^+ 从胞质中泵送出去的跨膜蛋白的细胞，它们的生存力就大为提高，因为这样可防止细胞变得更加酸化(图 14-40，阶段 1)。其中的一种泵使用 ATP 水解所产生的能量将 H^+ 排出细胞，这样的蛋白泵可能是现在的 ATP 合成酶的祖先。

随着地球上地质化学所提供的养分逐渐被耗尽，那些能够不消耗 ATP 而泵送 H^+ 的生物体开始具有优势起来：它们能够节约通过发酵越来越稀有的食物所获得的少量 ATP，用于为其他重要活动提供能量。养分稀缺这样的选择压力因而可能导致了电子传递蛋白的演化；这些蛋白使得细胞能够利用电子在具有不同氧化还原电位的蛋白间移动从而提供运送 H^+ 穿越质膜所需要的能量(图 14-40，阶段 2)。一些这样的细胞能够利用周围细胞作为代谢废物所排出的

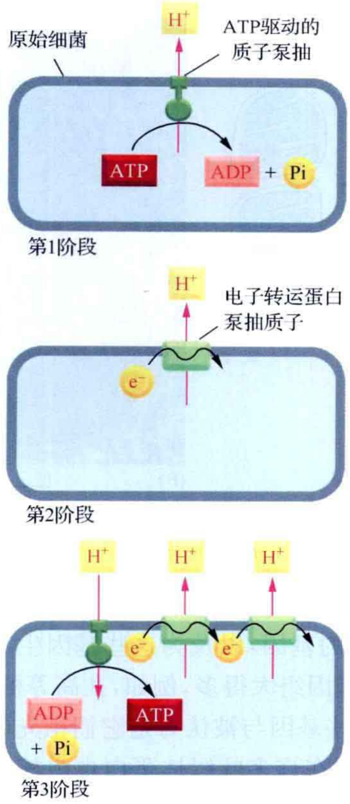


图 14-40 **氧化磷酸化可能分阶段地进化。**第 1 阶段涉及 ATP 酶的进化，利用 ATP 水解的能量将质子泵抽到细胞外；第 2 阶段涉及一个受电子传递链驱动的不同的质子泵的进化；第 3 阶段将这两个系统连接起来，产生一个 ATP 合成酶，利用电子传递链泵送的质子来合成 ATP。与那些只拥有一个系统或没有系统的细菌相比，拥有最后这个系统的细菌更具有选择优势。

不可发酵的有机酸作为电子源提供给电子传递系统。例如，一些现今在甲酸环境中生长的细菌能够使用少量的来自电子从甲酸至富马酸间的传递所产生的氧化还原能量来泵送 H^+。

最终，一些细菌演化出了高效的 H^+ 泵送电子传递系统，从而使它们获得比维持它们内部的 pH 所需值还要多的氧化还原能。这些细胞很可能产生了巨大的电化学质子梯度，使它们能够用以合成 ATP。质子可能会通过 ATP 驱动的 H^+ 泵泄漏回细胞，通过反向运作它们就能够使它们合成 ATP(图 14-40，阶段 3)。因为这样的细胞所需要的可发酵养分特别少，这使得它们能够胜出它们的邻居而进行增殖。

14.4.2 光合成细菌对它们的环境需求更少

能量代谢中最重要的一个进化上的突破是光化学反应中心的形成，它能够利用光能产生像 NADH 这样的分子。目前认为这发生在进化过程的早期——大约 30 亿年以前的绿色硫细菌的祖先中。现今的绿色硫细菌使用光能运输 H_2S 中的氢原子(一个电子加一个质子)至 NADPH 中，从而产生碳固定反应所需的强大的还原力(图 14-41)。

蓝细菌的出现(图 14-24)被认为是生命演化出能够使用水作为电子源进行光合成的下一步。这包括演化出分解水的酶以及与第一光系统联合作用的第二光系统，连接了水分子和 NADPH 之间氧化还原电位(图 14-33)间的鸿沟。这个演化步骤所带来的生物学后果是相当深远的，因为第一次出现了对环境需求极少的生命体。这些细胞能够以不像早期光合成细菌那样受限于 H_2S 或有机酸作为电子源的方式传播和演化。而且，大量生物合成的可发酵有机生物被积累起来。此外，大量的 O_2 开始进入大气层中(图 14-42)。

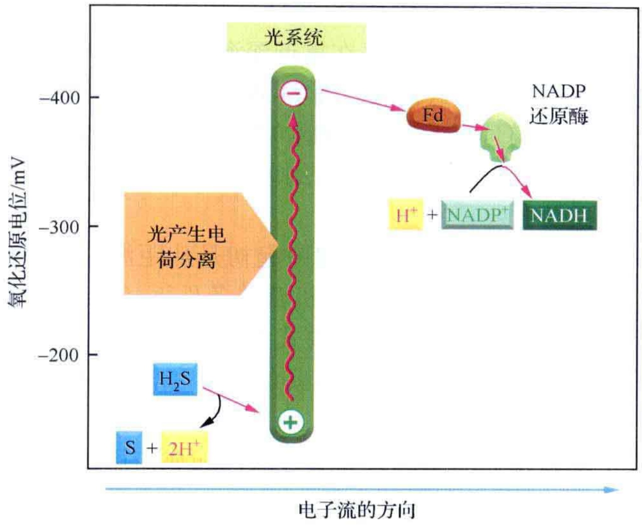


图 14-41 绿硫细菌中的光合作用利用硫化氢(H_2S)作为电子供体，而不是利用水。与 H_2O 相比，电子更容易从 H_2S 获取，因为 H_2S 具有更高的氧化还原电位(图 14-33)。因此，只需要一个光系统来生产 NADPH，而最终的副产物是硫元素，而不是 O_2。在绿硫细菌中的光系统与植物以及蓝细菌的光系统 Ⅰ 相似，它们都利用一系列铁-硫中心作为电子受体并最终将它们的高能电子传递给铁氧还蛋白(Fd)。这类细菌之一是绿硫菌(*Chlorobium tepidum*)，它们能在高温和低光强度的温泉中茁壮成长。

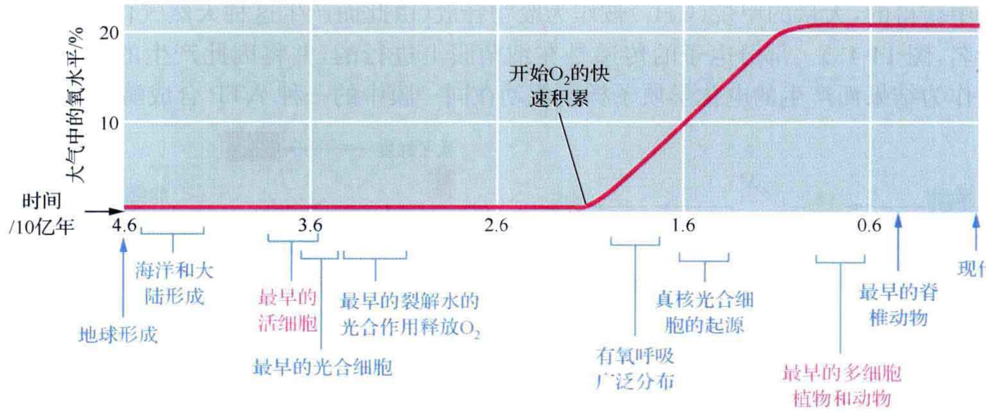


图 14-42 地球上的生命已经进化了数十亿年。随着 30 多亿年前基于膜的光合作用过程的进化，生物体已经不再依赖于那些先前形成的有机化合物了。现在它们可以用 CO_2 气体来制造自己的有机分子。从出现在光合作用过程中分解水并释放出 O_2 的细菌到大气中高水平 O_2 的积累，一共花了 10 亿多年的时间，这被认为是最初由于氧和溶解在原始海洋中丰富的亚铁离子(Fe^{2+})起反应。只有当铁被用完以后，氧气方能开始在大气中积累。为了响应大气中升高的氧气，非光合作用的耗氧生物出现了，于是大气中的氧浓度最终稳定下来。

O_2 的出现使得依赖于有氧代谢合成 ATP 的细菌的发育成为可能。就如前面所说的，这些生命体能够利用分解糖类以及其他还原形式的有机分子以形成 CO_2 和 H_2O 的方式产生大量的能量。

随着有机材料作为光合作用的副产物的逐渐积累，一些光合细菌——包括大肠杆菌的祖先——失去了只依赖光能生存的能力，而开始完全依赖细胞呼吸作用生存。线粒体很可能是由原始的真核细胞吞并了这样的依赖于呼吸作用的细菌后产生的。当这种早期的需氧真核生物的后裔捕获了叶绿体的前体光合成细菌以后，就产生了植物。一旦真核细胞成为获得了线粒体和叶绿体的共生物以后，它们就能够演化出各种令人惊奇的通路并最终产生了复杂得多的细胞生物。

14.4.3 甲烷球菌的生命形式表明化学渗透偶联是一个古老的过程

今天，被认为与35亿～38亿年前生活条件最为相似的是在靠近深海热水孔的地方。在这些出口，地球熔岩通过正在裂开的地壳向外逸出，在海底铺展。确实，现今的生命体中最接近所有生命起源的生命形式都具有在高温下（75～95℃，接近于沸腾的水）生活的特性。这些在极端温度条件下繁盛的特性，表明它们的共同祖细胞——产生细菌、古细菌以及真核细胞的祖细胞，曾经生活在非常热且缺氧的情况下。

今天生活在这种环境中的一种古细菌是甲烷球菌。这种细菌起初是从距海洋表面1英里①之下的热水孔中所分离出来的，它在光和氧气完全缺乏的无机营养条件下，利用从热水口中排放出来的氢气（H_2）、二氧化碳和氮气（N_2）生活。这种存在模式为我们研究早期细胞是如何使用电子传递链从炙热的早期地球的无机材料中获得它们需要的能量和含碳分子提供了线索。

甲烷球菌依赖于 N_2 作为其有机分子如氨基酸的氮源。它通过氢气加成作用使氮气还原成氨气（NH_3），这个过程称为固氮过程。这种固氮过程需要大量的能量，就像在碳固定过程中细菌需要将二氧化碳转化为糖那样。这两种过程都需要的能量大多是从 H_2 向 CO_2 传递电子的过程中获得的，大量的甲烷（CH_4）被作为废物释放（由此而产生这种天然气体，这种细菌也以此而命名，图14-43）。部分电子的传递是在细菌膜上进行的，并将因此产生的质子（H^+）泵送过膜。作为结果而产生的电化学质子梯度驱动在同一膜中的一种ATP合成酶制造ATP。

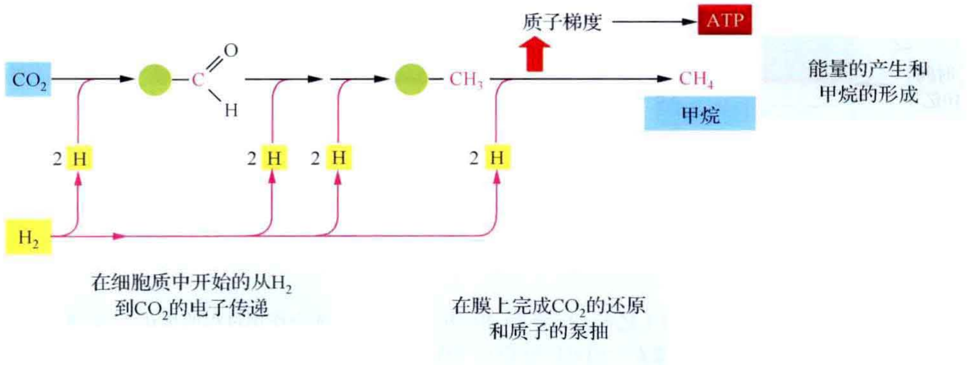
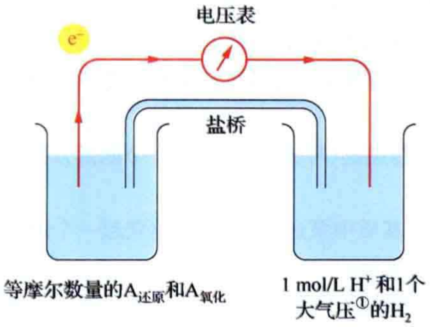


图14-43 甲烷球菌利用化学渗透偶联来产生能量。这种深海古细菌利用氢气（H_2）作为能量产生过程中还原力的来源。最初的还原步骤通过酶催化反应在胞质中进行。相反，最终的还原步骤涉及基于膜的电子传递，产生一个驱动ATP合成的质子梯度，同时产生甲烷作为废物。图中的绿色圆圈表示与代谢中间物结合的特殊辅酶。

如甲烷球菌这样的生物中发现的化学渗透偶联表明在氢离子梯度中从电子传递获得能量储备是一种极其古老的方式。因此，化学渗透偶联很可能推动了地球上几乎所有生命形式的演化。

① 1英里＝1609.344 m，后同。

如何测量氧化还原电位



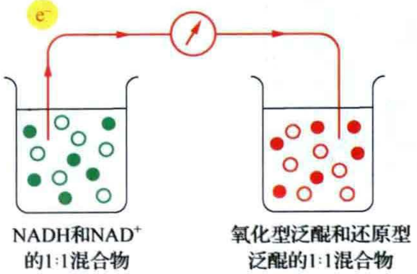
一个烧杯（左）盛着等摩尔数量的A物质的氧化还原对：$A_{还原}$和$A_{氧化}$。另一只烧杯盛着标准品的氢（$2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2$），国际上认同其氧化还原电位为零(一个由KCl浓溶液构成的盐桥，允许K^+和Cl^-能在两个烧杯之间流动，电流在两个烧杯之间流动时中和每个烧杯中的电荷)。金属线(红色)提供了一个无电阻的电子通道，一个电压表测量物质A的氧化还原电位。如果电子从$A_{还原}$流向H^+，如图中所示，这个由A物质组成的氧化还原对就被认为有一个负的氧化还原电位。如果有电流从H_2流至$A_{氧化}$，这个氧化还原对就被认为有一个正的氧化还原电位。

习惯上，一个氧化还原为对的氧化还原电位用E表示。由于生物学反应发生在pH为7的条件下，故生物学家用另一种标准状态，其中$A_{还原}=A_{氧化}$和$[H^+]=10^{-7}$mol/L，并用它来定义氧化还原电位E_0'。

氧化还原反应举例	氧化还原电位E_0
$NADH \rightleftharpoons NAD^+ + H^+ + 2e^+$	−320 mV
还原型泛醌 $\rightleftharpoons$ 氧化型泛醌 + $2H^+ + 2e^+$	+30 mV
还原型细胞色素c $\rightleftharpoons$ 氧化型细胞色素c + e^+	+230 mV
$H_2O \rightleftharpoons \frac{1}{2}O_2 + 2H^+ + 2e^+$	+820 mV

从氧化还原电位计算$\Delta G°$

$$\Delta E_0' = E_0'(\text{受体}) - E_0'(\text{供体})$$
$$\Delta E_0' = +30 - (-320) = +350$$



$\Delta G° = -n(0.023)\Delta E_0'$，这里的$n$是通过氧化还原电位的变化$\Delta E_0'$毫伏(mV)所传递的电子数。例如，从NADH转递一个电子到泛醌，有一个有利的$\Delta G°$即−8.0 kcal/mol。计算如下：

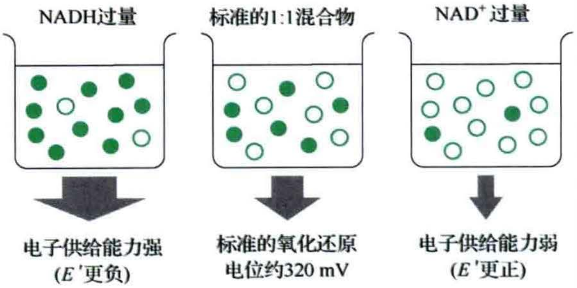
$$\Delta G° = -n(0.023)\Delta E_0' = -1\times(0.023)\times(350) = -8.0 \text{ kcal/mol}$$

同样的计算显示一个电子从泛醌转移到氧有一个更为有利的$\Delta G°$即−18.2 kcal/mol。一个电子从NADH转移到氧的$\Delta G°$值为上述两值的总和，即−26.2 kcal/mol。

① 1大气压=101 325Pa，后同。

浓度改变的效应

正如在第3章所说的，一个反应真正的自由能变化ΔG，取决于反应物的浓度，这通常都与标准自由能的变化$\Delta G°$不同。标准氧化还原电位是用于氧化还原对的1:1混合物，例如，NADH和NAD^+的1:1混合物的标准氧化还原电位是−320 mV。但如果NADH比NAD^+多时，电子从NADH转移到电子受体就变得更为有利。一个较负的氧化还原电位和电子转移有一较负的ΔG就反映了这一情况。



基本概念

- 线粒体、叶绿体以及许多细菌都通过以细胞膜为基础的化学渗透偶联机制产生 ATP。
- 线粒体利用糖和脂肪酸氧化作用获得的能量驱动动物细胞所需的大多数 ATP 的产生。
- 线粒体具有内膜和外膜。内膜中包围着线粒体基质。基质中含有许多酶，包括那些柠檬酸循环中的酶。这些酶从乙酰 CoA 的氧化作用中产生大量的 NADH 和 $FADH_2$。
- 在线粒体内膜中，由 NADH 和 $FADH_2$ 提供的高能电子沿着电子传递链(呼吸链)最终在一个能量方面有利的反应中与氧分子结合。
- 在呼吸链上电子传递过程中释放出来的一些能量被用于将 H^+ 从基质中泵送出去，由此建立起一个跨膜电化学质子梯度。泵送质子是由埋在膜中的三个大型呼吸酶复合物执行的。
- 由此产生的跨越线粒体内膜的电化学质子梯度使氢离子通过位于线粒体内膜上的 ATP 合成酶回流到基质中，从而制造 ATP。
- 电化学质子梯度还驱动进出线粒体的代谢物的主动运输。
- 在叶绿体和光合细菌的光合作用中，高能电子是在光被叶绿素吸收时产生的。这种能量被位于叶绿体类囊体膜中的一种称作光系统的蛋白质复合物捕获。
- 电子传递链与光系统一起将电子从水中传递给 $NADP^+$，形成 NADPH。分子氧作为副产品而产生。
- 叶绿体中的电子传递链也能够产生跨类囊体膜的质子梯度。如同在线粒体中那样，跨类囊体膜质子梯度被埋在膜中的 ATP 合成酶用以制造 ATP。
- 光合作用产生的 ATP 和 NADPH 在叶绿体内用以驱动叶绿体基质中的碳固定循环，从而由 CO_2 产生糖。
- 这种糖被输送到胞质溶胶进行代谢，并为细胞的其他部分提供有机碳、ATP(通过线粒体)和还原力。
- 线粒体和叶绿体都被认为是从被最原始的真核细胞内吞的细菌进化而来的。它们都保留了自身的基因组以及类似细菌的分裂机制。
- 化学渗透偶联机制分布广泛且起源古老。现今有些细菌的生存环境与设想中的早期地球环境十分相似，这些细菌也利用化学渗透偶联制造 ATP。

关键词

ATP 合成酶	光系统	碳固定	线粒体	氧化磷酸化
电子传递链	化学渗透偶联	天线复合体	循环光合磷酸化	叶绿素
反应中心	基质(matrix)	铁硫中心	氧化还原对	叶绿体
固氮	基质(stroma)	细胞色素	氧化还原反应	
光合作用	醌	细胞色素氧化酶	氧化还原势	

问题

问题 14-1 二硝基酚(DNP)是一种能使质子通过膜的小分子。在 20 世纪 40 年代，这个剧毒的化合物曾小剂量地用于患者，使其体重减轻。DNP 能有效地减轻体重，特别能减少储存的脂肪。你能否解释它可能如何减轻体重？然而由于有不愉快的副作用，患者在用药期间体温升高，大量出汗。请对这些症状作出解释。

问题 14-2 电镜照片显示，在心肌中线粒体内嵴的密度要比在皮肤细胞的线粒体高得多。试对此作出解释。

问题 14-3 当在线粒体中加入药物二硝基酚(DNP)时，内膜就变得允许让质子(H^+)通过。相反，如果加入尼日利亚菌素(nigericin)，线粒体内膜就变得对 K^+ 通透。(A)为了响应 DNP，电化学质子梯度将如何变化？(B)为了响应尼日利亚菌素，它又将如何变化？

问题 14-4 ATP 合成酶具有双向作用的性质，它使储存在 H^+ 梯度中的能量和储存在 ATP 中的能量可以在两个方向相互转换。(A)如果把 ATP 合成酶制造 ATP 比作水轮机发电，那么当反应以反方向进行时可用

什么来作适当的比喻？(B)在什么条件下 ATP 合成酶会停止工作，既不正向又不反向运行？(C)ATP 合成酶的运作方向是由什么决定的？

问题 14-5 请计算每个电子对从 NADH 传递到氧时所产生的 ATP 分子数，如果：①每个电子通过 3 个呼吸酶复合物时，有 5 个质子被泵过线粒体内膜；②在线粒体内，由 ADP 和无机磷酸产生的每个 ATP 分子必须有 3 个质子通过 ATP 合成酶；③将每个 ATP 分子转运出线粒体到其被利用的胞质中需要用 1 个质子产生电压梯度。

问题 14-6 在电子传递链的很多步骤中，作为血红素或 FeS 簇一部分的 Fe 离子被用来与传递中的电子结合。为什么这些执行电子传递化学的功能基团必须结合在蛋白质上？试提出几个不同的理由来说明为什么这是必需的。

问题 14-7 两种不同的可扩散电子载体——泛醌和细胞色素 *c*，载着电子往返于电子传递链上的三个蛋白质复合物之间。在原则上，同样的可扩散载体能否用于这两个步骤？试解释你的回答。

问题 14-8 叶绿体具有第三个内部区室，即以类囊体膜为界的类囊体腔。该膜含有光系统、反应中心、电子传递链和 ATP 合成酶。相比之下，线粒体以它们的内膜进行电子传递和 ATP 合成。在这两种细胞器中，质子都被泵送出最大的内部区室[在线粒体中是 matrix(基质)，叶绿体中是 stroma(基质)]。类囊体腔与细胞的其他部分完全隔离。为什么这种安排会使叶绿体中有一个比线粒体所能达到的更大的 H^+ 梯度呢？

问题 14-9 NADPH 和相关的载体分子都是很强的电子供体。为什么植物细胞有可能通过进化产生依赖于 NADPH 来提供光合作用的还原能力，而不是 NADH？

问题 14-10 A. 植物的根部细胞不含叶绿体也不暴露于光，它们是怎样存活的？

B. 与线粒体不同，叶绿体没有一个可以将 ATP 送到胞质溶胶的转运蛋白。植物细胞在胞质溶胶中的需能代谢反应是怎样获得 ATP 的？

问题 14-11 下面陈述中哪些是正确的，请解释你的回答。

A. 当一个电子被光移走后，第一个光系统(光系统Ⅱ)的反应中心上带正电的叶绿素对电子的亲和性甚至比氧气对电子的亲和性更大。

B. 光合作用是光驱动一个电子从叶绿素向电子亲和性低得多的第二个分子的传递。

C. 因为它需要吸收 4 个光子而从两个水分子中释放 1 个氧分子，分解水的酶必须与反应中间物保持紧密的结合，以防止被部分还原的有危险性的超氧化物自由基逸出。

问题 14-12 下面陈述中哪些是正确的？试解释。

A. 很多但不是全部电子传递反应涉及金属离子。

B. 电子传递链因将电子从膜间隙运到基质而产生一个跨膜电位。

C. 电化学质子梯度由两种成分组成：pH 差异和电位差异。

D. 泛醌和细胞色素 c 都是可扩散的电子载体。

E. 因为有了叶绿体，所以植物没有线粒体也能生活。

F. 叶绿素和血红素两者都具有广泛的双键系统，使得它们能够吸收可见光。

G. 叶绿素在光合作用中的作用相当于血红素在线粒体内电子传递中的作用。

H. 一棵树的干重大部分来自于根部吸收的矿物质。

问题 14-13 单个质子沿电化学梯度下行进入线粒体基质时释放 4.6 kcal/mol 的自由能。如果在细胞内的条件下合成 ATP 所需的 ΔG 为 11～13 kcal/mol，那么，合成一个 ATP 分子需要多少个质子穿越线粒体内膜(ΔG 在第 3 章中讨论过)？为什么对后面的值所设定的是一个范围，而不是一个精确的数字？在什么条件下可选用那个较低的数值？

问题 14-14 在下面陈述中从楷体的选择对象中选出一个正确的，并证明你的回答。“如果没有可以利用的 O_2，线粒体传递链中的所有组分将以它们的氧化/还原形式积累。如果突然加入 O_2，细胞色素氧化酶中的电子载体将在 NADH 脱氢酶中电子载体之前/之后被还原/氧化。”

问题 14-15 假定 NADH 脱氢酶将氧化的泛醌转化为还原的泛醌发生在线粒体内膜基质的一侧，并且细胞色素 b-c_1 的氧化作用发生在此膜的膜间隙一侧(图 14-9，图 14-19)。这种安排对跨膜 H^+ 梯度的产生有什么后果？

问题 14-16 如果给两根浸泡在水里的铂丝(电极)加上电压,水分子会被分解为 H_2(氢气)和 O_2(氧气)。负极提供电子,释出氢气;正极则接受电子,产生氧气。而光合细菌和植物细胞分解水时,它们只产生 O_2 却没有 H_2,为什么?

问题 14-17 在 20 世纪 60 年代时做的一个有远见的实验中,首先把叶绿体浸泡在 pH 为 4 的酸性溶液里,使基质和类囊体腔酸化(图 Q14-17)。然后将它们转移到一碱性溶液(pH 8)中。这使得基质的 pH 迅速提高至 8,而类囊体腔的 pH 则暂时保持在 4。然后,观察到 ATP 合成突然出现,类囊体和基质之间 pH 的差别也消失了。

A. 解释为什么这些条件会导致 ATP 的合成?

B. 实验过程中需要光吗?

C. 如果将浸泡溶液更换一下,使第一种溶液 pH 为 8,而第二种溶液 pH 为 4,将会出现什么情况?

D. 这个实验使人支持还是怀疑化学渗透模型?请解释你的回答。

问题 14-18 作为你进实验室的第一个实验,你的导师要求你将细菌紫膜质(一种光合细菌质膜的光驱动 H^+ 泵)与从牛心脏细胞线粒体中纯化出来的 ATP 合成酶一同重组进同一个膜泡中(图 Q14-18)。然后你再将 ADP 和 Pi 加至外部的介质,并把该小泡的悬液置于光照下。

A. 你将观察到什么?

B. 如果没有将所有的去垢剂完全去除,因而小泡膜保持着离子渗漏,你会观察到什么?

C. 饭后将你的新实验告诉你的朋友,他对你利用那些来自于如此广泛而又不相关的生物体组分的方法的有效性提出质疑:为什么有人要把香草布丁和刹车油混在一起呢?试针对他的评论为你的方法辩护。

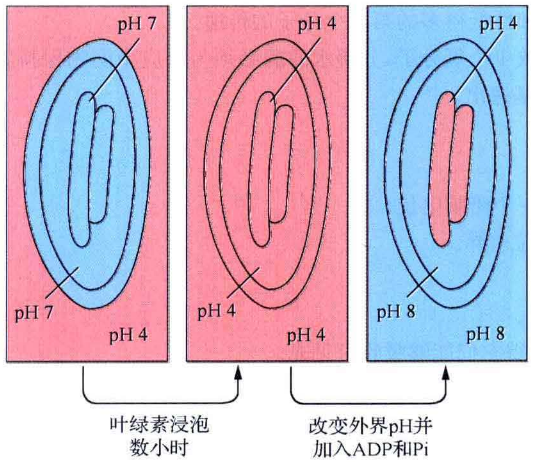


图 Q14-17

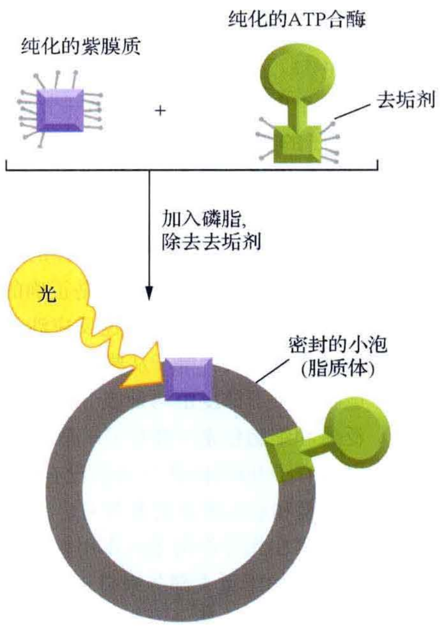


图 Q14-18

问题 14-19 $FADH_2$ 是在柠檬酸循环中通过嵌于膜中的一种叫琥珀酸脱氢酶的酶复合物产生的,它们含有结合的 FAD 并进行以下反应:

$$\text{琥珀酸} + \text{FAD} \longrightarrow \text{延胡索酸盐} + \text{FADH}_2$$

和

$$\text{FADH}_2 \longrightarrow \text{FAD} + 2\text{H} + 2e^-$$

然而,$FADH_2$ 氧化还原电位只有 −220 mV(参见图版 14-1 和图 14-20)。请提出一个似乎可能的机制,通过这种机制,电子可以被注入电子传递链。试画一简图来表达你设想的机制。

问题 14-20 某些细菌已经特化成能在高 pH(pH 10)环境中生活。你是否认为这些细菌利用跨质膜的质子梯度产生 ATP 吗?(提示:所有细胞都必须使其细胞质的 pH 接近中性。)

问题 14-21 图 Q14-21 概括了线粒体和叶绿体中所用的对不同能量形式进行互换的路线。下面的说法是否正确?

A. 叶绿体的产物就是线粒体的底物。

B. 通过光系统对电子的激活能使叶绿体将水中的电子传递至糖类,这与线粒体中电子的传递方向相反吗?

C. 柠檬酸循环是正常的碳固定循环的逆转。

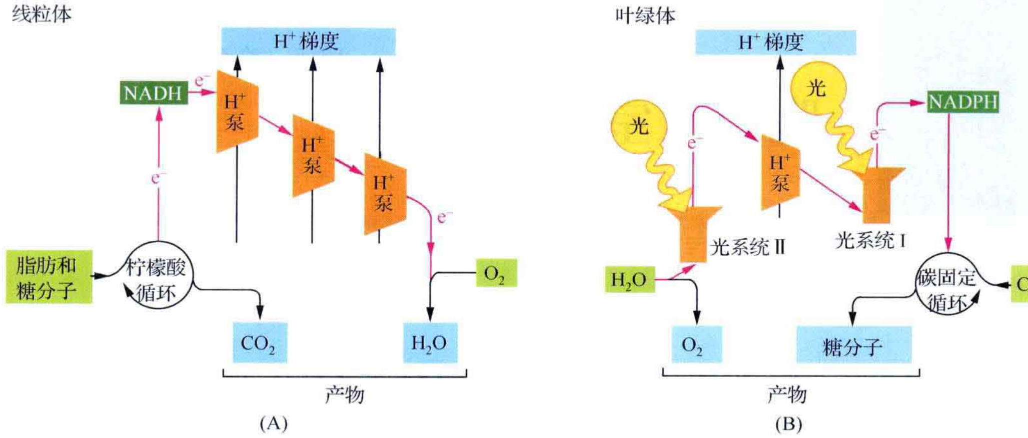


图 Q14-21

问题 14-22 一篇论文已经投到了一家很有声望的科学杂志。该文作者描述了一个实验,说他们已成功地捕获了单个 ATP 合成酶分子并对其施加力以机械地旋转其头部。作者显示在无 H^+ 梯度时,旋转这个 ATP 合成酶的头部时产生了 ATP。这对 ATP 合成酶作用的机制意味着什么?这篇文章可考虑发表在这一优秀的杂志上吗?

问题 14-23 请你将以下化合物混合在一溶液中。假定电子必须遵循图 14-9 中规定的途径,你认为在哪个实验中会有电子向细胞色素 c 的净转移?讨论一下为什么在另外一些实验中不出现电子传递?

A. 还原的泛醌和氧化细胞色素 *c*。

B. 氧化的泛醌和氧化细胞色素 *c*。

C. 还原的泛醌和还原细胞色素 *c*。

D. 氧化的泛醌和还原细胞色素 *c*。

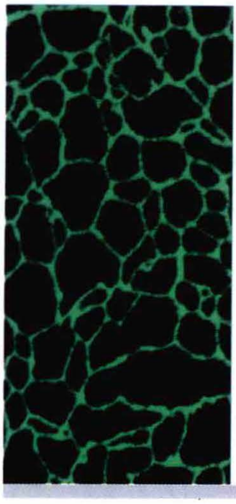
E. 还原的泛醌、氧化细胞色素 *c*、细胞色素 b-c_1 复合物。

F. 氧化的泛醌、氧化细胞色素 *c*、细胞色素 b-c_1 复合物。

G. 还原的泛醌、还原细胞色素 *c*、细胞色素 b-c_1 复合物。

H. 氧化的泛醌、还原细胞色素 *c*、细胞色素 b-c_1 复合物。

(刘 彬 陈跃磊 译)



15

15.1 膜被细胞器
15.2 蛋白质分选
15.3 囊泡转运
15.4 分泌途径
15.5 胞吞途径

胞内区室及转运

每时每刻,典型的真核细胞都进行着成千上万种不同的化学反应,其中许多反应是不相容的。例如,一系列反应合成葡萄糖,而另一系列反应则分解葡萄糖;某些酶合成肽键,而另一些则分解它们等。事实上,如果将肝脏等任何一个器官的细胞破碎后的内容物混合在一个试管中,就会导致化学混乱,细胞的酶和其他蛋白质将很快被自身的蛋白水解酶所降解。因此,细胞要有效运作,各种互不相同但又同时存在于细胞内的过程必须以某种方式分开。

细胞已进化出几种方案用于分离和组织其化学反应。一种原核细胞和真核细胞通用的策略是将催化某一系列特定反应所需的各种不同的酶聚集成一个大的多组分的蛋白质复合物。例如,这种多蛋白质复合物被用于 DNA、RNA 和蛋白质合成。第二种是在真核细胞中高度发达的策略,是把不同代谢过程及完成这一过程所需的蛋白质限制在不同的膜被区室内。如在第 11 章和第 12 章中所讨论的,细胞膜提供了选择性通透屏障,控制了大多数分子的转运。本章我们将讨论区室化方案及其一些结果。

在第一部分,我们讨论真核细胞主要的膜被区室或*膜被细胞器*,并简要讨论其主要功能。在第二部分,我们讨论不同区室的蛋白质组分是如何建立和维持的。每个区室都含有一套独特的蛋白质,这些蛋白质在胞质溶胶中合成,然后被选择性地转运到使用这些蛋白质的区室。这一被称为*蛋白质分选*的转运过程,依赖蛋白质中的氨基酸序列构成的信号。在第三部分,我们讨论这些真核细胞的膜被区室是如何通过形成膜被小囊即*囊泡*相互作用的。在这个称为*囊泡转运*的过程中,囊泡从一个区室掐出,转运通过胞质溶胶,最后与另一区室融合。在最后两部分,我们讨论这种持续进行的囊泡运输如何为在*胞吐*过程中从细胞释出蛋白质和在*胞吞*过程中摄入蛋白质提供主要的途径。

15.1 膜被细胞器

原核细胞通常由质膜包被的单一区室即**胞质溶胶**所组成,而真核细胞则由内膜将其作进一步的精细分隔。这些膜创造了封闭的区室,使得一个区室内的酶能在不受其他区室内所进行的反应干扰的情况下起作用。把一个植物或动物细胞做横切面切片并在电镜下观察,可以看到许

许多多小的膜包被的囊、管、球和形状不规则的结构，其排列常常没有明显的规律(图 15-1)。这些结构都是明显的膜被细胞器，或是这些细胞器的一部分，每一个细胞器含有一套独特的大大小小的分子并执行特殊的功能。在这一部分，我们将综述这些功能并讨论这些不同的膜被细胞器是如何进化的。

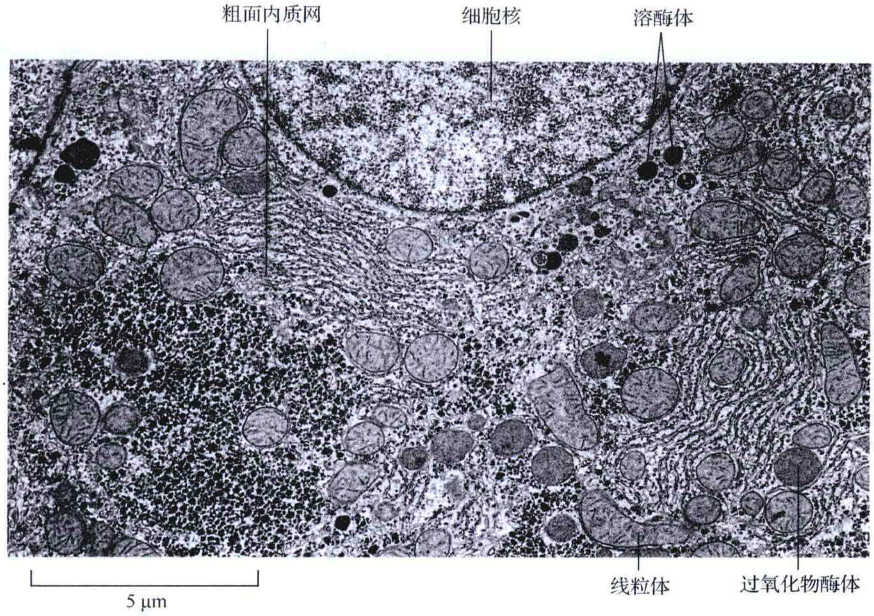


图 15-1 真核细胞中，内膜形成封闭的区室和细胞器，不同的代谢过程在其中被分隔开。在肝细胞横切面的局部电镜照片中可以看见许多主要膜被细胞器的实例。在膜被区室之间的小黑颗粒是糖原以及控制糖原合成和降解的酶的聚集(由 Daniel S. Friend 提供)。

15.1.1 真核细胞含有一套基本的膜被细胞器

动物细胞的主要**膜被细胞器**见图 15-2，其功能见表 15-1。这些细胞器都为质膜包被的胞质溶胶所包围。在真核细胞中，细胞核一般是最明显的细胞器。它被称为核被膜的双层膜所包被，并通过穿孔于核被膜的核孔与胞质溶胶通讯。核外膜与内质网膜相连。内质网是由相互连接的膜囊与膜管构成的连续系统，通常贯穿于大部分细胞。它是细胞内合成新膜的主要场所。内质网的胞质面上相当大部分附着核糖体，因而被称为粗面内质网。核糖体积极地合成蛋白质

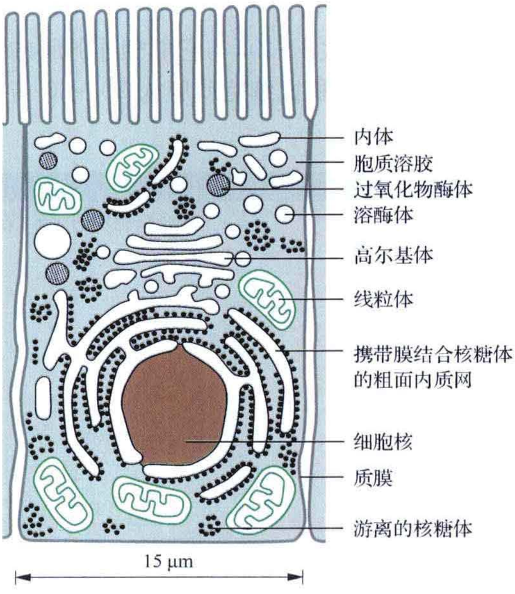


图 15-2 一个来自小肠内表面的细胞含有一套在大多数动物细胞中都能见到的基本细胞器。细胞核、内质网(ER)、高尔基体、溶酶体、内体、线粒体和过氧化物酶体都是明显的区室，它们通过至少一层选择性通透的膜与胞质溶胶(灰色)分开。核糖体也显示出来，尽管它们并无膜包被，而且太小以至于在光学显微镜下看不到，因此不符合细胞器原来的定义。一些核糖体游离在胞质溶胶中，而其他的则结合在内质网的胞质溶胶面上。

并释放到内质网腔或内质网膜内。光面内质网没有核糖体。虽然在大多数细胞中光面内质网所占比例较少，但在另一些细胞中它却高度发达以完成特殊的功能：例如，它是肾上腺细胞合成类固醇激素的场所，也是肝脏细胞内包括酒精在内的多种有机分子解毒的场所。在许多真核细胞中，光面内质网也负责将 Ca^{2+} 与胞质溶胶隔开；Ca^{2+} 从内质网释放和再摄取涉及对许多胞外信号的快速响应，在第 12 章和第 16 章讨论。

表 15-1　真核细胞膜被区室的主要功能

区室	主要功能
胞质溶胶	包含许多代谢途径(第 3 章和第 13 章)，蛋白质合成(第 7 章)
细胞核	包含主要基因组(第 5 章)；DNA 和 RNA 合成(第 6 章和第 7 章)
内质网(ER)	合成大多数脂质(第 11 章)；合成分配到许多细胞器和质膜中去的蛋白质(本章)
高尔基体	分泌或输送到其他细胞器中去的蛋白质和脂质的修饰、分选和包装(本章)
溶酶体	细胞内的降解(本章)
内体	胞吞物质的分选(本章)
线粒体	通过氧化磷酸化作用合成 ATP(第 14 章)
叶绿体(植物细胞内)	通过光合作用合成 ATP 和固定碳(第 14 章)
过氧化物酶体	氧化有毒分子

高尔基体通常位于核附近，它接收来自内质网的蛋白质和脂质，修饰它们并将它们派送到细胞内其他的目的地。溶酶体是一些包含消化酶的小囊，它们降解废旧的细胞器以及通过胞吞摄入细胞的大分子和颗粒。在胞吞物质运到溶酶体的途中，必须通过一系列称作内体的区室，内体分选摄入的分子并将其中一部分再循环回至质膜。**过氧化物酶体**是由单层膜包被的小细胞器。它们含有许多在降解脂质和消除有毒分子的氧化反应中所需的酶。线粒体和(植物细胞中的)叶绿体均由双层膜包被并分别是氧化磷酸化和光合作用的场所(在第 14 章中讨论)；两者都含有高度特化为产生 ATP 的膜。

包括内质网、高尔基体、线粒体和叶绿体在内的许多膜被细胞器都因附着在细胞骨架，特别是附着在微管上，而在细胞内具有它们相应的位置。细胞骨架丝提供细胞器移动的轨道并为细胞器之间运输的囊泡导向。这些运动由马达蛋白驱动，马达蛋白利用 ATP 水解产生的能量推动细胞器和囊泡沿着这些丝运动，这将在第 17 章中讨论。

所有膜被细胞器的体积平均占真核细胞体积的一半(表 15-2)，与它们相连的膜的总量是巨大的。例如，在一个典型的哺乳动物细胞中，内质网膜的面积比细胞质膜大 20～30 倍。根据面积和质量，在大多数真核细胞中质膜只能算是很小的膜。

表 15-2　肝细胞(肝细胞)中主要膜被细胞器所占的相对体积

胞内区室	占细胞总体积的百分比/%	每个细胞中的大致数量
胞质溶胶	54	1
线粒体	22	1700
内质网	12	1
细胞核	6	1
高尔基体	3	1
过氧化物酶体	1	400
溶酶体	1	300
内体	1	200

一旦一种细胞器从细胞其他结构中分离出来后，我们便可以获得很多有关其组成和功能的

知识。在很大程度上，细胞器因为太小而难以用手工分离，但是可以用差速离心的方法把一种类型的细胞器与其他类型分离开(图版 4-4)。一旦获得纯净的某种类型的细胞器，就能鉴定出该细胞器的蛋白质。在许多情况下，细胞器本身可以在适宜的条件下在试管内温育以研究其功能。例如，分离出来的线粒体可以在适当地提供 ADP 和 O_2 的条件下，把丙酮酸氧化成 CO_2 和水并产生 ATP。

15.1.2 膜被细胞器由不同途径进化而来

为了理解现代真核细胞内不同区室之间的关系，最好先研究它们是如何进化而来的。区室可能是分阶段进化的。最初的真核细胞祖先被认为是类似细菌那样的简单微生物，有质膜而无内膜。在这些细胞中的质膜就像大多数现代细菌中的质膜一样，提供所有膜依赖的功能，包括 ATP 合成和脂质合成等。细菌个体小，因而其表面积/体积值大，它们的质膜面积足以维持所有需要膜的重要功能，所以可以采取这种安排。然而，当代真核细胞的体积比大肠杆菌那样的典型细菌大 1000～10 000 倍。如此大的细胞具有较小的表面积/体积比，如果仅以质膜作为膜，恐怕难以生存。因此，如果没有内膜的出现，真核细胞所特有的体积增大不可能会发生。

膜被细胞器被认为至少通过两条途径进化而来。核被膜、内质网膜、高尔基体膜、内体膜和溶酶体膜被认为是起源于质膜内陷(图 15-3)。这些膜及其包被的细胞器，都是总称为**内膜系统**的一部分。我们随后将讨论，通过从一种细胞器出芽产生囊泡以及囊泡与另一个细胞器融合的方式，使这些细胞器内部(细胞核例外)相互间以及与细胞外进行广泛的交流。正如我们将看到的，与这种假设的进化起源一致的是，在许多情况下细胞将这些细胞器的内部作为“外部”来处理。图 15-3 所示的这一假设图示也可以解释为什么细胞核为双层膜所包被。虽然在现代细菌中膜内陷很少见，但是它确实存在于某些光合细菌中，在这些细菌中含有光合作用装置的质膜区域内化，形成胞内囊泡。

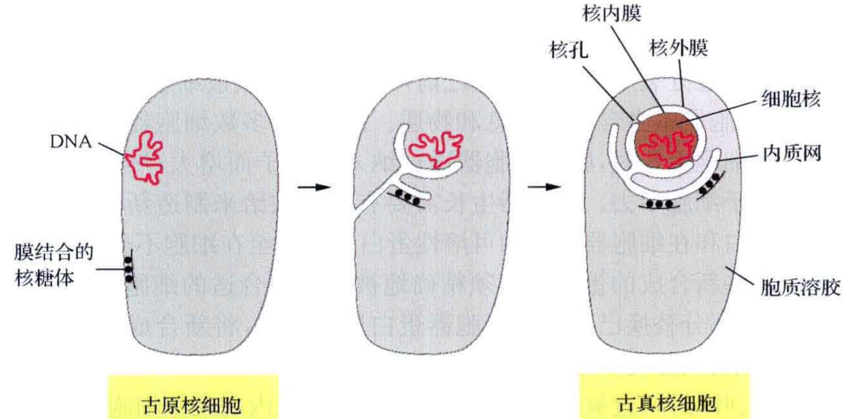


图 15-3 核膜和内质网膜可能由质膜的内陷进化而来。在细菌中，单个 DNA 分子典型地附着在质膜上。因此可能在一种非常古老的原核细胞中，其质膜连同附着在其上的 DNA 发生内陷，并最终形成一个完全包围 DNA 的双层膜的核被膜。推测这一核被膜后来完全与质膜分离，成为由双层膜包被的核区室。核被膜被称为核孔的通道贯通，使其能与胞质溶胶直接通信。同一膜的其他部分形成内质网，其上黏附着一些核糖体。这一假设能解释为什么内外核被膜之间的空腔与内质网腔相连。

线粒体和叶绿体被认为有不同的起源。正如在第 14 章所讨论的，它们与其他所有细胞器不同，它们具有自己的小基因组并能合成某些自己的蛋白质。这些基因组和细菌基因组的相似性以及其中某些蛋白质和细菌蛋白质的相似性，强烈提示线粒体和叶绿体是由最初共生时被原

始真核细胞吞入的细菌进化而来的(图 15-4)。从它们的起源可以预期,线粒体和叶绿体不参与广泛的囊泡转运,而其他大多数膜被细胞器内部的相互交流以及它们与细胞外部的联系都靠囊泡转运介导。

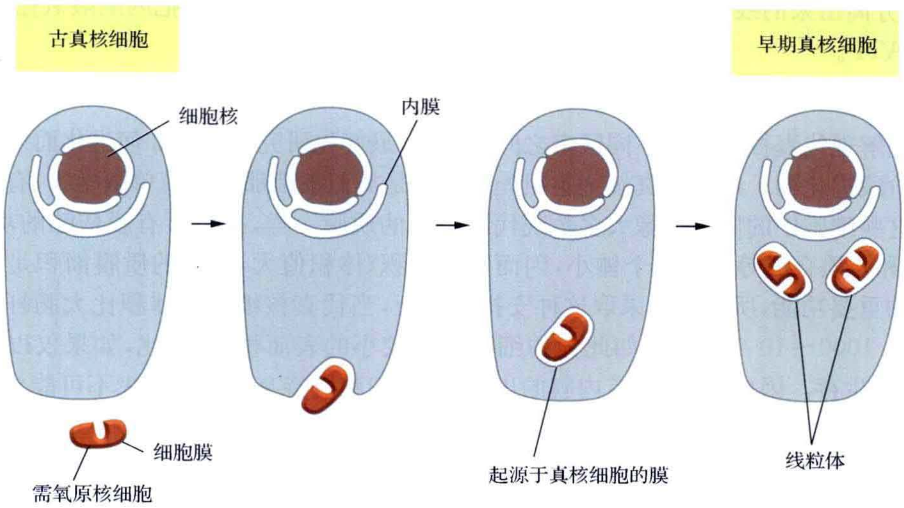


图 15-4 线粒体被认为起源于一个原核细胞被一个较大真核细胞内吞。叶绿体被认为稍晚以相同的方式起源,即由一个真核细胞内吞一个光合作用的原核细胞。这个理论可以解释为什么这些细胞器有两层膜以及为什么它们并不参与连接许多其他胞内区室的囊泡运输。这也能解释为什么它们有自己的基因组。

简要综述了真核细胞的主要膜被细胞器后,现在我们将转向每个细胞器如何获得其特有的蛋白质这一问题。

15.2 蛋白质分选

在一个真核细胞通过分裂成为两个细胞之前,必须复制其膜被细胞器。细胞不能凭空制造这些细胞器:它需要细胞器本身含有的信息和物质。因此,大多数细胞器都是由已有细胞器生长和分裂形成的。当细胞生长时,膜被细胞器通过纳入新分子而增大;然后当细胞分裂时细胞器分裂并分配到两个子细胞中去。细胞器生长需要有脂质供给来制造新膜同时需要有适当的蛋白质供给——膜蛋白和在细胞器内部的可溶性蛋白质。甚至在细胞不分裂时,蛋白质也是在源源不断地合成。这些新合成的蛋白质必须精确地被输送到合适的细胞器中——一部分最终从细胞中分泌出去,一部分替换已降解的细胞器蛋白质。因此,将新合成的蛋白质运送到合适的细胞器对于细胞的生长、分裂和正常功能都是必需的。

对于包括线粒体、叶绿体、过氧化物酶体和细胞核内部在内的某些细胞器而言,蛋白质直接从胞质溶胶输入到目的细胞器。而对于包括高尔基体、溶酶体、内体和核被膜在内的其他一些细胞器而言,蛋白质和脂质是通过内质网间接运送的,内质网本身是脂质和蛋白质合成的主要场所。蛋白质直接从胞质溶胶进入内质网,其中一些留在那里,但大多数蛋白质通过囊泡转运到高尔基体并随后进到其他细胞器或质膜中。

在本节中我们讨论蛋白质从胞质溶胶直接进入膜被细胞器的机理。蛋白质在胞质溶胶内合成,并按照其氨基酸序列中所包含的特定地址标签分发到细胞的不同部位。一旦到达正确的位置,蛋白质便进入这个细胞器。

15.2.1 蛋白质通过三种机制输入细胞器

实际上细胞内所有蛋白质的合成都是在胞质溶胶中的核糖体上开始。只有少数线粒体和叶绿体的蛋白质例外，它们是在这些细胞器内部的核糖体上合成；但是绝大多数线粒体和叶绿体的蛋白质还是在胞质溶胶中合成并被输入的。任何在胞质溶胶中合成的蛋白质分子的命运都取决于其自身的氨基酸序列，这些氨基酸序列中包含指导蛋白质到所需的细胞器去的分选信号。缺少这种信号的蛋白质将成为胞质溶胶内的“永久居民”；而那些有分选信号的蛋白质从胞质溶胶中被运送到适当的细胞器中。不同的分选信号分别指导蛋白质到核、线粒体、叶绿体（在植物中）、过氧化物酶体和内质网中去。

当膜被细胞器从胞质溶胶或其他细胞器中输入蛋白质时，总要面临一个问题：如何使蛋白质通过通常对亲水大分子不能通透的膜？不同的细胞器用不同的方法来完成这一目标。

(1) 蛋白质从胞质溶胶运入核内是利用穿过核外膜和核内膜的核孔来转运的。核孔起选择性通道的作用，它主动转运特定的大分子，但同时也允许小分子自由扩散（图 15-5 中的机制 1）。

(2) 蛋白质从胞质溶胶运入内质网、线粒体或叶绿体是由位于细胞器膜上的**蛋白质转运体**转运的。与通过核孔的转运不同，被转运的蛋白质分子通常必须伸展以钻过膜（图 15-5 中的机制 2）。在细菌质膜上也有类似的蛋白质转运体，用于从胞质溶胶中运出蛋白质。

(3) 蛋白质从内质网或从内膜系统的一个区室到另一个区室的转运采用与上述两种方式截然不同的机理。这些蛋白质是被**转运囊泡**摆渡的。转运囊泡从一个区室的内部间隙，或腔内，装载上蛋白质，从膜上掐断并离开。这些囊泡随后通过膜融合的方法把所装载的蛋白质卸到第二个区室中去（图 15-5 中的机制 3）。在这个过程中，膜脂和膜蛋白也从第一区室被转运到第二区室。

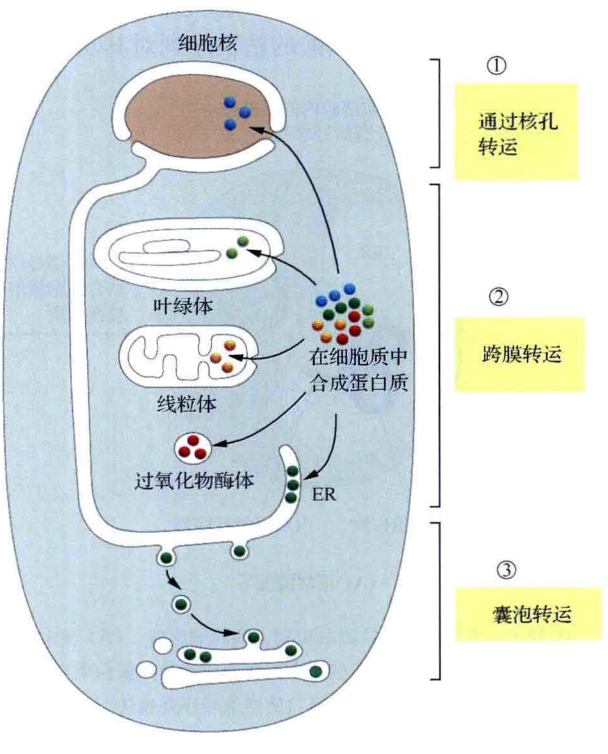


图 15-5 膜被细胞器通过三种机制之一输入蛋白质。所有转运过程都需要能量。在机制 1 和 3 的转运过程中，蛋白质保持折叠状态，但在机制 2 过程中通常必须为伸展状态。

15.2.2 信号序列指导蛋白质到正确的区室中

典型的蛋白质分选信号是一段连续的氨基酸序列，通常有 15～60 个氨基酸长。这个**信号序列**经常（但不总是）在分选任务完成后从蛋白质上被切除。细胞中一些用以指定不同目的地的信号序列见表 15-3。

表 15-3 一些典型的信号序列

信号的功能	信号序列的范例
输入内质网	^+H_3N—Met—Met—Ser—Phe—Val—Ser—Leu—Leu—Leu—Val—Gly—Ile—Leu—Phe—Trp—Ala—Thr—Glu—Ala—Glu—Gln—Leu—Thr—Lys—Cys—Glu—Val—Phe—Gln—
留在内质网腔内	—Lys—Asp—Glu—Leu—COO^-
输入线粒体	^+H_3N—Met—Leu—Ser—Leu—Arg—Gln—Ser—Ile—Arg—Phe—Phe—Lys—Pro—Ala—Thr—Arg—Thr—Leu—Cys—Ser—Ser—Arg—Tyr—Leu—Leu—
输入核	—Pro—Pro—Lys—Lys—Lys—Arg—Lys—Val—
输入过氧化物酶体	—Ser—Lys—Leu—

注：带正电荷氨基酸以红色表示，带负电荷氨基酸以蓝色表示。一个疏水氨基酸的延伸区段以绿色表示。^+H_3N 表示蛋白质的氨基端；COO^- 表示羧基端。内质网滞留信号通常用它的单字母氨基酸缩写表示，KDEL。

信号序列对于指导一个蛋白质到达一个特定的细胞器是必要和足够的。用遗传工程技术(在第 10 章中讨论)将信号序列切除或从一个蛋白质转移到另一蛋白质上的实验证明了这一点。例如，切除一个内质网蛋白质的信号序列可将其转变为胞质溶胶蛋白，而把内质网信号序列放到一种胞质溶胶蛋白的前面，就能使它重新定位到内质网上(图 15-6)。指定到同一目的地的信号序列可以有很大的变化，即使它们有相同的功能：疏水性或带电荷的氨基酸的位置等物理性质看起来往往比氨基酸的精确序列对其功能更重要。

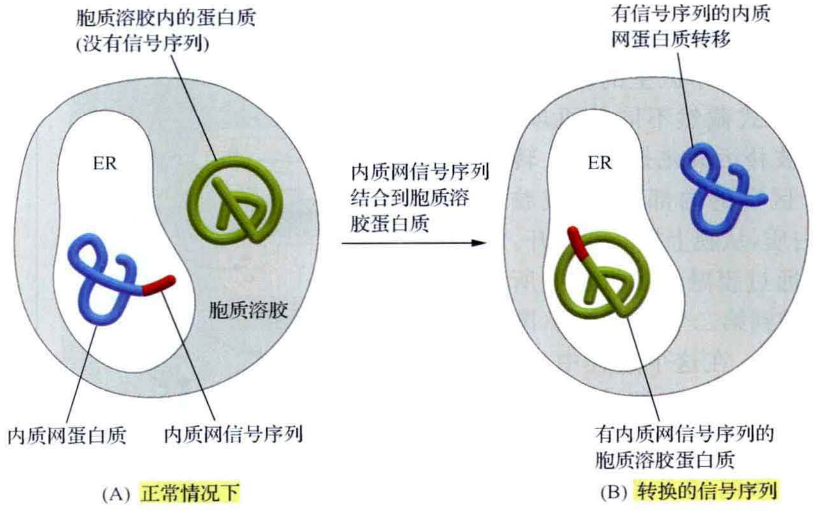


图 15-6 信号序列指导蛋白质到正确的细胞器。(A) 预定定位到内质网去的蛋白质拥有一个 N 端的信号序列指导它们到内质网，而那些预定留在胞质溶胶的蛋白质则没有这一序列；(B) 重组 DNA 技术可以用来改变两个蛋白质的位置：如果内质网蛋白质的信号序列被切下并连接到胞质溶胶蛋白上，则这两种蛋白质在细胞内都异常定位。这些实验证明内质网信号序列必须而且足以指导一个蛋白质到达内质网。

15.2.3 蛋白质通过核孔进入核内

核被膜包被核 DNA 并界定核区室。它由两层同心膜形成。核内膜中含有可作为染色体结合位点的蛋白质(在第 5 章中讨论)，它们也为*核纤层*提供锚定部位。核纤层是一层精致的由蛋白质丝交织而成的网络，位于核内膜内面并为核被膜提供结构支持(在第 17 章中讨论)。核外膜的组成很像与之相连的内质网膜(图 15-7)。

所有真核细胞的核被膜都贯穿着**核孔**，核孔形成了所有出入核的分子的通道。通过核孔可进行双向转运：新合成的预定到核的蛋白质自胞质溶胶通过核孔进入（视频 15.1）；在核内合成的 RNA 分子和在核内装配的核糖体亚基通过核孔输出。不完全剪接的 mRNA 不能从核内输出，提示核转运是 mRNA 的合成和加工的最后的质量监控步骤（在第 7 章中讨论）。

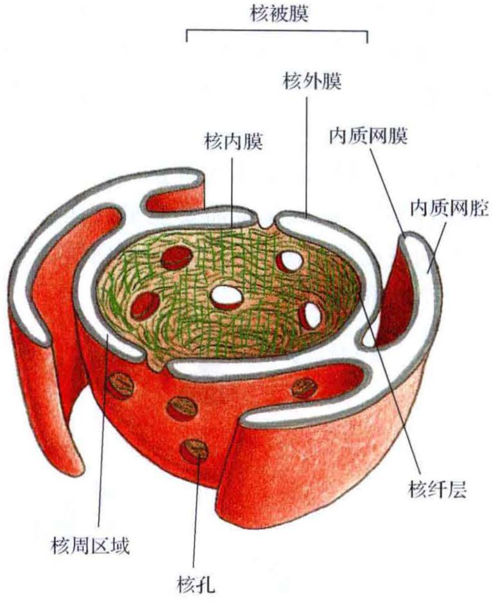


图 15-7 核外膜与内质网是连续的。核孔穿过双层的核被膜。在正常情况下附着在内质网膜胞质溶胶面和核外膜上的核糖体未被显示。

核孔是由约 30 个不同蛋白质构成的大而精致的结构（图 15-8）。每个核孔都含有充满水的通道，小的水溶性分子能通过它自由地无选择性地来往于核与胞质溶胶之间。许多核孔的内衬蛋白含有广泛的非结构化区域，它们被认为构成了无序缠结——就像是海洋中的海带床。这些乱蓬蓬的网状物充满了通道的中心，阻止了大分子通过，但同时允许小分子穿过。

大分子（如 RNA 与蛋白质）和大分子复合物必须带有合适的分选信号才能通过核孔。指导蛋白质从胞质溶胶进入核内的信号序列称为**核定位信号**，它们通常由含有几个带正电荷的赖氨酸或精氨酸的一段或两段短序列所构成（表 15-3）。

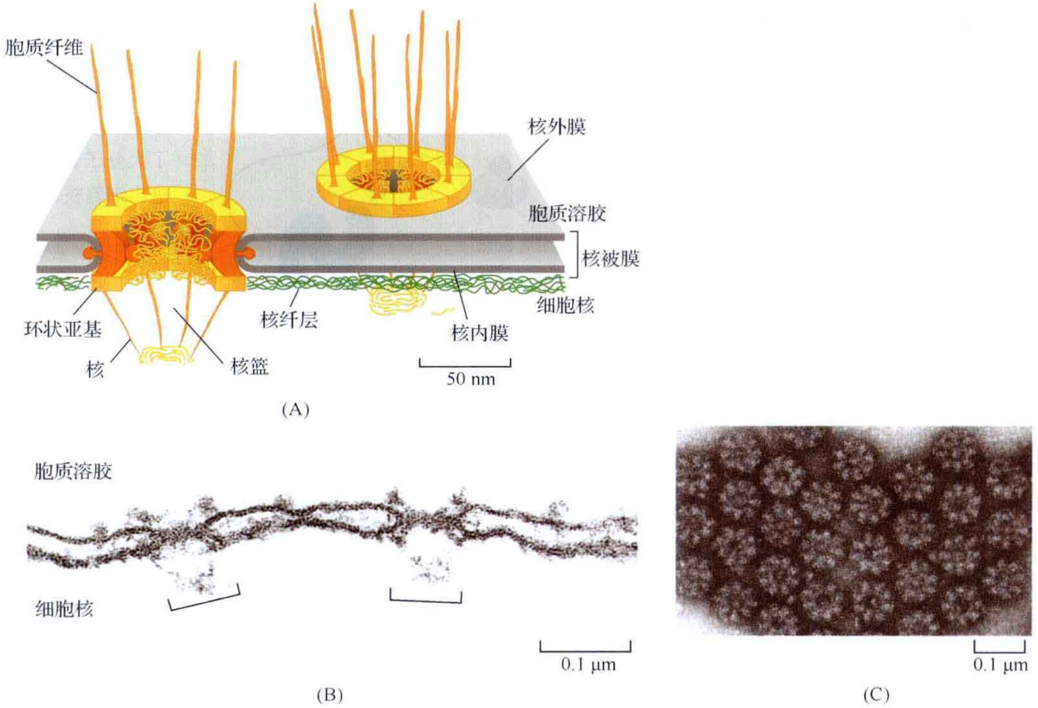


图 15-8 核孔复合物形成分子进出细胞核的通道。(A) 核被膜的一小部分图示，显示了两个核孔复合物。每个复合物由大量不同种类的蛋白质亚基组成。蛋白质纤维从复合物两侧伸出；在细胞核一侧，它们汇聚成一个篮状结构。纤维之间的空隙足够大，不会阻碍靠近核孔。(B) 一部分核被膜区域的电镜照片显示两个核孔复合物的侧面观（方括号）。(C) 电镜照片显示核孔复合物的正面观；膜已经被去垢剂抽提走。(B 由 Werner W. Franke 提供；C 由 Ron Milligan 提供)

一些被称为核转运受体的胞质溶胶蛋白结合到新合成的预定到核内的蛋白质的核定位信号上。这些受体通过和从核孔边缘延伸出来的触须样纤维相互作用帮助新合成的蛋白质到达核孔(图 15-9)。在转运过程中，核转运受体抓住核孔蛋白质缠结内的重复氨基酸序列，将受体自身从一个核孔蛋白拉向另一个核孔蛋白，帮助它们运载的蛋白质进入核内。一旦蛋白质被运送到核内后，核转运受体通过核孔回到胞质溶胶可再次利用(图 15-9)。和任何有序的过程一样，将蛋白质转运入核也需要能量。在这个过程中，利用 GTP 水解提供能量，驱使核转运朝合适的方向进行(图 15-10)。核孔蛋白质以惊人的速度控制着这一分子闸门，双向泵送大分子通过每一个核孔。

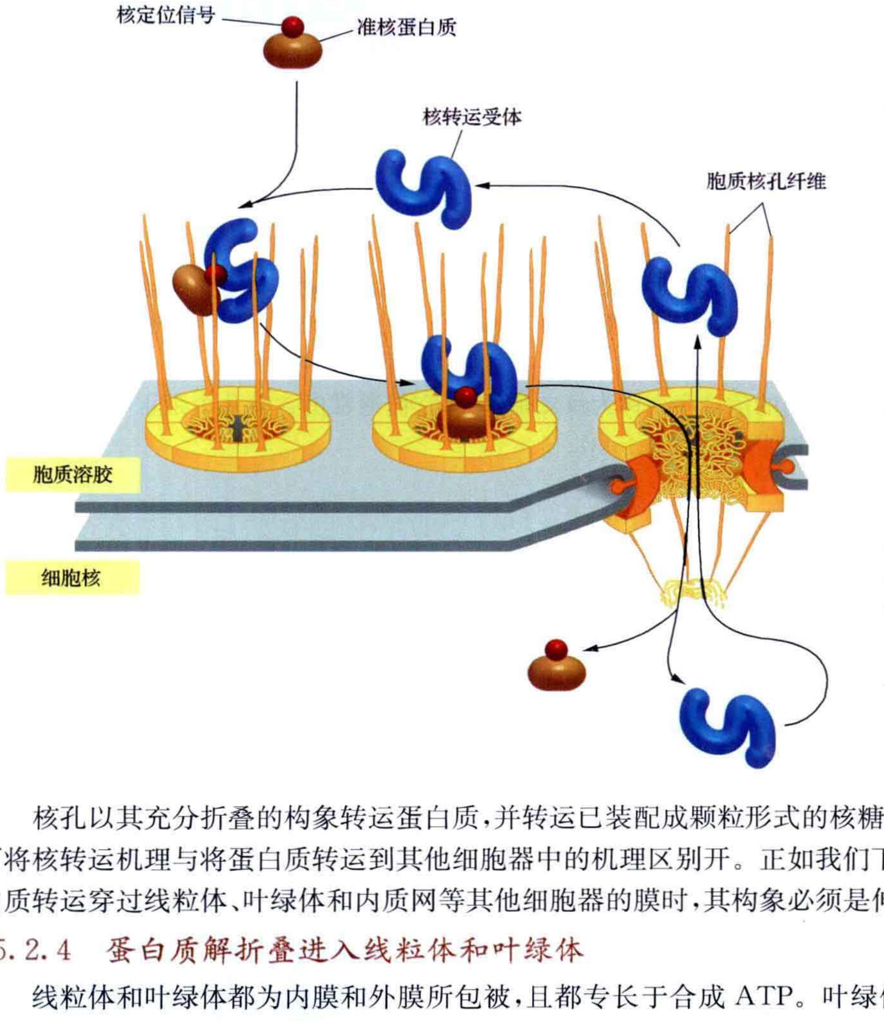


图 15-9 运往细胞核的蛋白质主动转运通过核孔。核蛋白和其结合的受体一起，主动转运进入细胞核。为清楚起见，延伸进入核的篮状结构的纤维(图 15-8)没有显示。一种相似类型的转运受体在相反的方向其作用，把 mRNA 从核中运出(图 7-20)；两种受体都有相似的基本结构。一个核孔复合物的剖面图显示了位于孔中心的蛋白质的非结构化区域如何形成无序缠结，从而阻止了大分子通过被动扩散进出细胞核。

核孔以其充分折叠的构象转运蛋白质，并转运已装配成颗粒形式的核糖体成分。这一特征可将核转运机理与将蛋白质转运到其他细胞器中的机理区别开。正如我们下面要讨论的，当蛋白质转运穿过线粒体、叶绿体和内质网等其他细胞器的膜时，其构象必须是伸展的。

15.2.4 蛋白质解折叠进入线粒体和叶绿体

线粒体和叶绿体都为内膜和外膜所包被，且都专长于合成 ATP。叶绿体还含有第三种膜系统即类囊膜(在第 14 章中讨论)。虽然这两种细胞器都含有自己的基因组并合成某些自己的蛋白质，但大多数线粒体和叶绿体的蛋白质都由细胞核内的基因编码，并从胞质溶胶运入。这些蛋白质通常在氨基端具有一个使它们能进入特定细胞器的信号序列。预定到这两种细胞器的蛋白质在两层膜彼此接触的特定部位同时穿过内膜和外膜。每一个蛋白质在转运时都是伸展的，而且当转运完成后其信号序列都被切除(图 15-11)。细胞器内的伴侣蛋白(在第 4 章中讨论)帮助把蛋白质拉过两层膜并在蛋白质进入后帮助其重新折叠。蛋白质在细胞器内部再转运到如内膜、外膜或类囊体膜的特定部位时，通常还需要蛋白质上另外的分选信号，这些分选信号

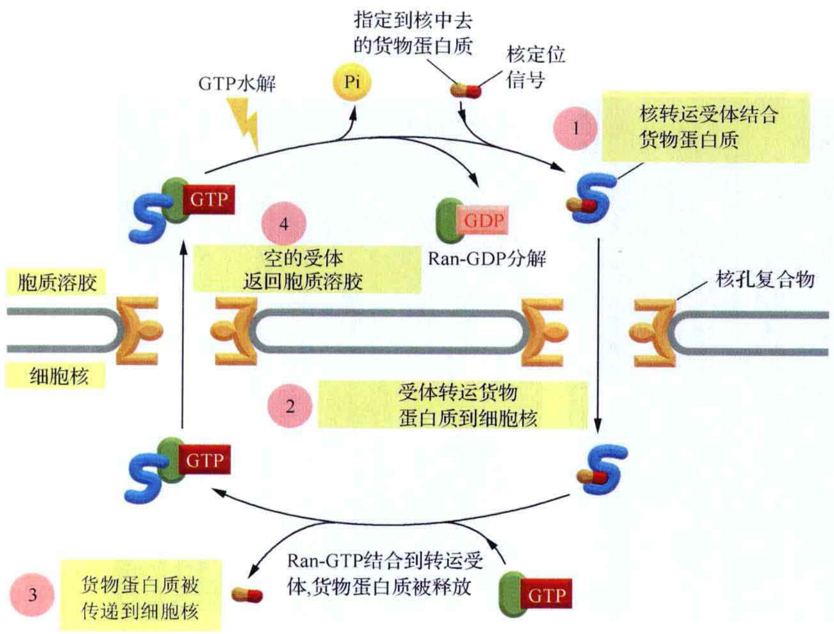


图 15-10 **GTP 水解提供的能量驱动了核转运。**一个核转运受体带上它的胞质溶胶中的货物蛋白质进入细胞核。在核内它遇到了一个被称为 Ran 的小蛋白,Ran 带着一个 GTP 分子。Ran-GTP 与核转运受体的结合导致了核转运受体释放其所带货物。在核内卸载其所带货物后,仍然带着 Ran-GTP 的核受体从核孔转运回到胞质溶胶中。在那里,一个附件蛋白(未显示)启动 Ran 水解其结合的 GTP。Ran-GDP 从转运受体上脱落下来,随后转运受体又能自由结合任何预定到细胞核的蛋白质。相似的循环也被用于把 mRNA 和大分子从细胞核中运到胞质溶胶中。

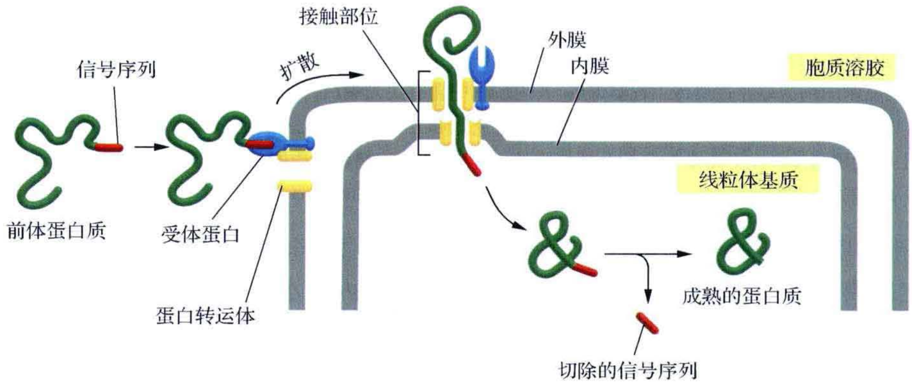


图 15-11 **蛋白质以非折叠状态进入线粒体。**线粒体信号序列被线粒体外膜上的受体识别。结合了蛋白质的受体复合物在膜上侧向扩散到达一接触部位,蛋白质在那里通过蛋白转运体穿过内外膜(视频 15.2)。信号序列被细胞器内的信号肽酶切除。蛋白质通过相似的机制进入叶绿体。图中未显示帮助蛋白质穿过膜并重新折叠的伴侣蛋白。

通常只有在第一信号序列被切除后才暴露出来。例如,跨膜蛋白插入内膜是由蛋白质中开始和终止穿过膜的转运过程的信号序列所介导的,正如后面我们将讨论的跨膜蛋白插入内质网膜一样。

线粒体和叶绿体的生长和维持不仅需要运入新的蛋白质,也需要新的脂质加到其膜内。大多数膜磷脂被认为是从内质网输入的,内质网是细胞内合成脂质的主要场所。水溶性的脂质载体蛋白从一处膜上抽取一个磷脂分子并把它运送到另一处膜上,借此将磷脂分别转运到这些细胞器中。

15.2.5 蛋白质在被合成时即进入内质网

内质网是真核细胞内最广泛的膜系统(图 15-12A)。和我们迄今讨论过的细胞器不同,它作为预定到包括内质网本身的其他细胞器的蛋白质的进入点。预定到高尔基体、内体和溶酶体以及预定到细胞表面的蛋白质,都先从胞质溶胶进入内质网。在转运进程中,每个蛋白质一旦

进入内质网或嵌入内质网膜中，便不会再重新进入胞质溶胶。它们将通过转运囊泡从一个细胞器被运到另一个细胞器，某些情况下，从细胞器被运到质膜或细胞外。

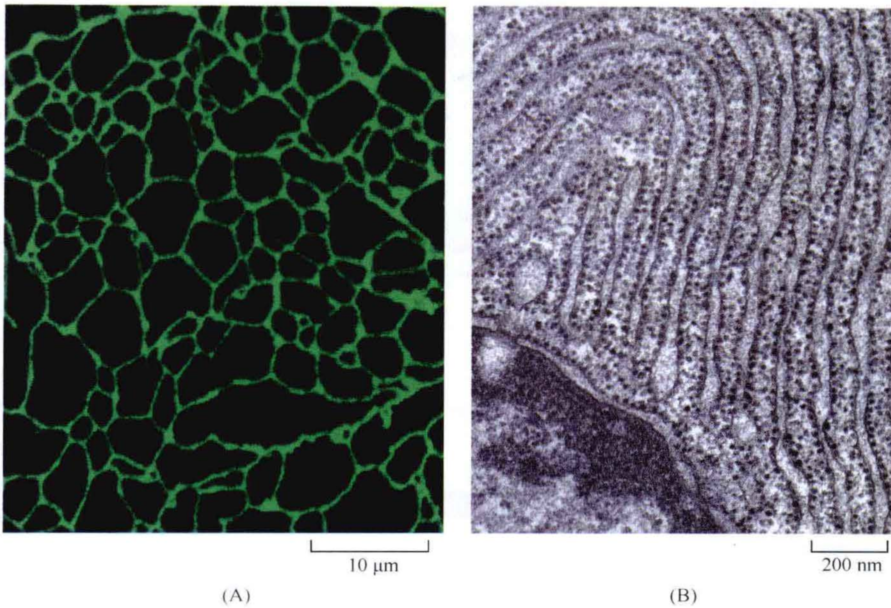


图 15-12　内质网是真核细胞中最广泛的膜网络。(A) 一个活的植物细胞的荧光显微镜照片显示内质网复杂的管道网络。这里显示的细胞是经过遗传工程修饰的，其内质网中含有荧光蛋白。这里只显示了细胞中的部分内质网网络。(B) 电镜照片显示一个狗胰腺细胞中的粗面内质网，它制造和分泌大量消化酶。胞质溶胶中充满了紧密堆积的内质网层，其上附着核糖体。左下角是细胞核及核被膜的一部分；注意连接着内质网的外核膜上也附着核糖体。要看内质网网络的动态视图，请看视频 15.3。(A 由 Jim Haseloff 提供；B 由 Lelio Orci 提供)

两类蛋白质从胞质溶胶被运往内质网：①水溶性蛋白完全穿过内质网膜并释放在内质网腔中；②预定跨膜蛋白只有部分穿过内质网膜并嵌入在膜内。水溶性蛋白或作分泌之用(通过在细胞表面释放)，或作为一个细胞器腔内的蛋白质；跨膜蛋白或留在内质网膜或其他细胞器膜内，或留在质膜内。所有这些蛋白质最初都是由一段 8 个或 8 个以上疏水氨基酸构成的内质网信号序列导入内质网(表 15-3)，内质网信号序列也参与蛋白质跨膜转运过程。

与进入核、线粒体、叶绿体和过氧化物酶体的蛋白质不同，大多数进入内质网的蛋白质在多肽链尚未完全合成之前就穿越内质网膜。这就要求合成蛋白质的核糖体附着在内质网膜上。这些膜结合的核糖体覆盖在内质网表面，形成了一个称为**粗面内质网**的区域，这是因为在电镜下观察时其呈现独特的颗粒状结构(图 15-12B)。

因此，在胞质溶胶中存在着两类分开的核糖体。膜结合核糖体附着在内质网膜(以及核外膜)的胞质溶胶面，负责制造运入内质网的蛋白质。游离核糖体不附着在任何膜上，负责合成核 DNA 编码的其他所有蛋白质。膜结合核糖体和游离核糖体在结构和功能上是完全相同的，只是在任何特定时间所合成的蛋白质不同。当一个核糖体碰巧合成带有内质网信号序列的蛋白质时，信号序列指引该核糖体结合到内质网膜上。在一个 mRNA 分子被翻译时，许多核糖体结合在上面形成一个多核糖体(在第 7 章中讨论)。就编码带有内质网信号序列蛋白质的 mRNA 分子来说，多核糖体通过生长着的多肽链插入内质网膜内因而锚接在内质网膜上(图 15-13)。

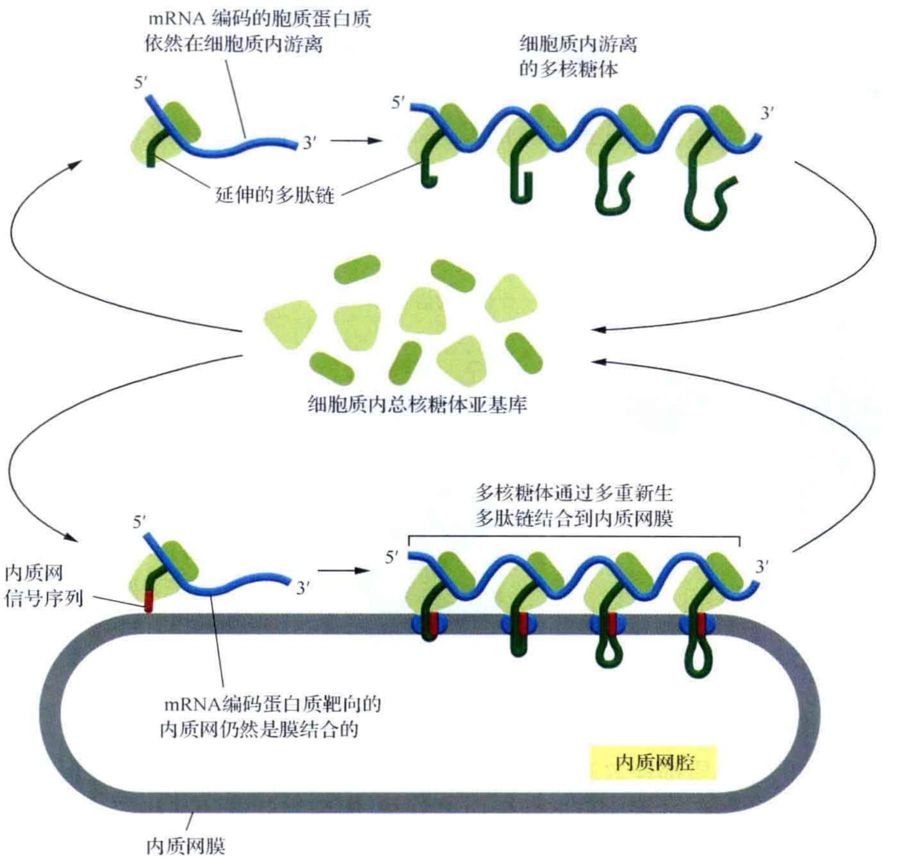


图 15-13　一个共同的核糖体库用于合成留在胞质溶胶内和转运到包括内质网在内的膜被细胞器中的蛋白质。合成胞质溶胶蛋白质的核糖体在胞质溶胶中保持游离状态。对于要运往内质网的蛋白质，在生长的多肽链上有一个信号序列（红色）指导核糖体到达内质网膜。许多结合了各自 mRNA 分子的核糖体形成一个多核糖体。在每一轮蛋白合成的最后，核糖体亚基被释放并重新进入胞质溶胶中的共同核糖体库中。

15.2.6　可溶性蛋白质被释入内质网腔

内质网信号序列被导至内质网膜至少借助于两种组分：①一种位于胞质溶胶内的信号识别颗粒（SRP），当暴露于核糖体时它与内质网信号序列相结合；②一种嵌入内质网膜内的 SRP 受体，它识别 SRP。SRP 与信号序列的结合导致核糖体合成蛋白质的速度放慢，直到核糖体及其结合的 SRP 结合到内质网上的 SRP 受体上。在 SRP 与其受体结合后，SRP 被释放，蛋白质合成重新开始，此时多肽通过内质网膜上的一种转运通道穿入内质网腔中（图 15-14）。因此，SRP 和 SRP 受体起分子配对标记的作用，把合成带有内质网信号序列蛋白质的核糖体连接到可用的内质网转运通道。

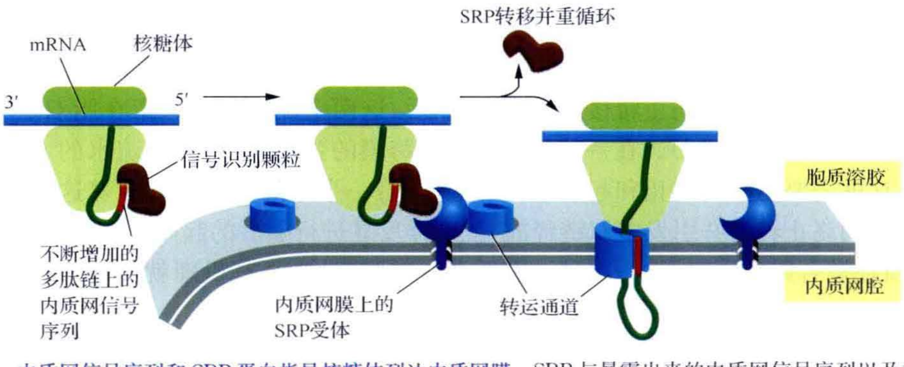


图 15-14　内质网信号序列和 SRP 蛋白指导核糖体到达内质网膜。SRP 与暴露出来的内质网信号序列以及核糖体结合，因此降低了核糖体合成蛋白质的速度。随后 SRP-核糖体复合物再与内质网膜上的 SRP 受体结合。SRP 被释放，把核糖体转到在内质网膜中的转运通道中。最后，转运通道将多肽链插入膜中并开始将它运过脂双层。

除了指导蛋白质运往内质网以外，信号序列——对于可溶性蛋白总是位于 N 端——也在开启转运通道中起作用。信号肽维持它与通道结合，而蛋白质链的其余部分则穿过膜而形成一个大环。在转运过程中的某一时期，信号序列被位于内质网膜腔面的信号肽酶所切除；然后信号肽从转运通道释放并很快被降解。一旦蛋白质的 C 端通过膜，蛋白质便释放进入内质网腔（图 15-15）。

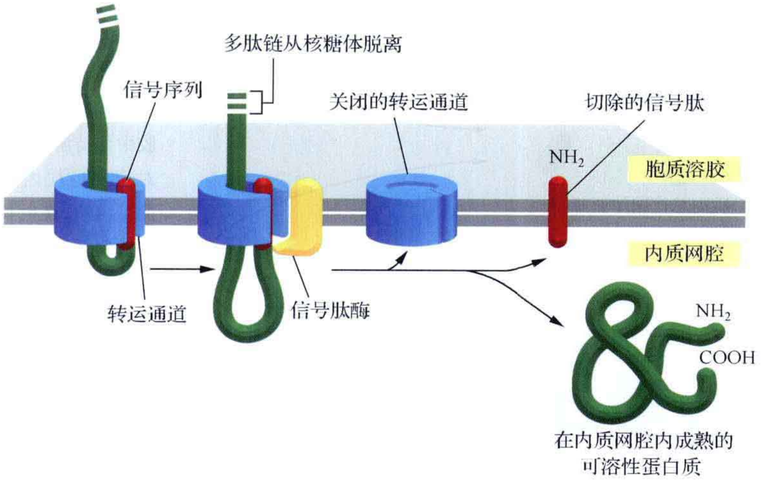


图 15-15　可溶性蛋白质穿过内质网膜进入腔内。转运通道与信号序列结合并主动转运其余的多肽链以侧环形式穿过脂双层。在转运过程的某些位点，信号肽被信号肽酶从生长的蛋白质上切除。切除的信号序列被弹进双层中，并在那里被降解，被转运的多肽以可溶性蛋白的形式释放进内质网腔。一旦蛋白质被释放，转运通道的孔关闭。为清楚起见，在本图和随后的两幅图中，结合在膜上的核糖体均被省略。

15.2.7　起始和终止信号决定跨膜蛋白在脂双层中的排列

并非所有进入内质网的蛋白质都释放进入内质网腔。一些蛋白质作为跨膜蛋白保持嵌入在内质网膜内。这些蛋白质的转运过程比可溶性蛋白要复杂，因为多肽链的某些部分必须干净利落地穿过脂双层而其他部分则保持固定在膜上。

在最简单的例子，即只有一个跨膜片段的跨膜蛋白中，和水溶性蛋白一样，其 N 端的信号序列启动转运。但是转运过程被多肽链中的额外的疏水氨基酸序列——终止转移序列所终止（图 15-16）。这第二个序列从转运通道释放并漂移到脂双层平面中，在那里形成了一个把蛋白质锚定在膜上的 α 螺旋的跨膜片段。同时，N 端的信号序列也从通道释放进入脂双层并被切除。结果，这个被转运的蛋白质最后成为一个插入膜中的跨膜蛋白，它有一个确定的取向，即 N 端位于脂双层的腔面，而 C 端位于胞质溶胶面（图 15-16）。正如第 11 章中所讨论的，跨膜蛋白一旦插入膜中，它的取向不再改变，在随后的囊泡出芽和融合过程中始终保持着其取向。

某些跨膜蛋白利用一个内部的而非 N 端的信号序列来启动转运，这个内在的信号序列称为起始转移序列，它不会从多肽中被切除。这种情况多见于某些来回穿行于脂双层的跨膜蛋白。在这种情况下，疏水的信号序列被认为是成对起作用的：一个内部的起始转移序列启动转运，持续作用直到遇到一个终止转移序列为止；然后，这两个疏水序列保留在脂双层中，而且仍然保持跨膜 α 螺旋（图 15-17）。在一些复杂的多次跨膜的蛋白质中，许多疏水的 α 螺旋穿行在脂双层中，这就需要更多的终止和起始序列对起作用：一个序列重新启动顺着这条多肽链的转运，另一个序列终止转运并引发多肽链释放，就这样反复进行随后的起始和终止。这样，多次跨膜的蛋白质在被合成的同时，就一次又一次地被嵌在脂双层上，其机理就像缝纫机的工作原理一样。

已经了解了蛋白质如何进入内质网腔或嵌在内质网膜中之后，现在我们要讨论它们如何由转运囊泡向前转运。

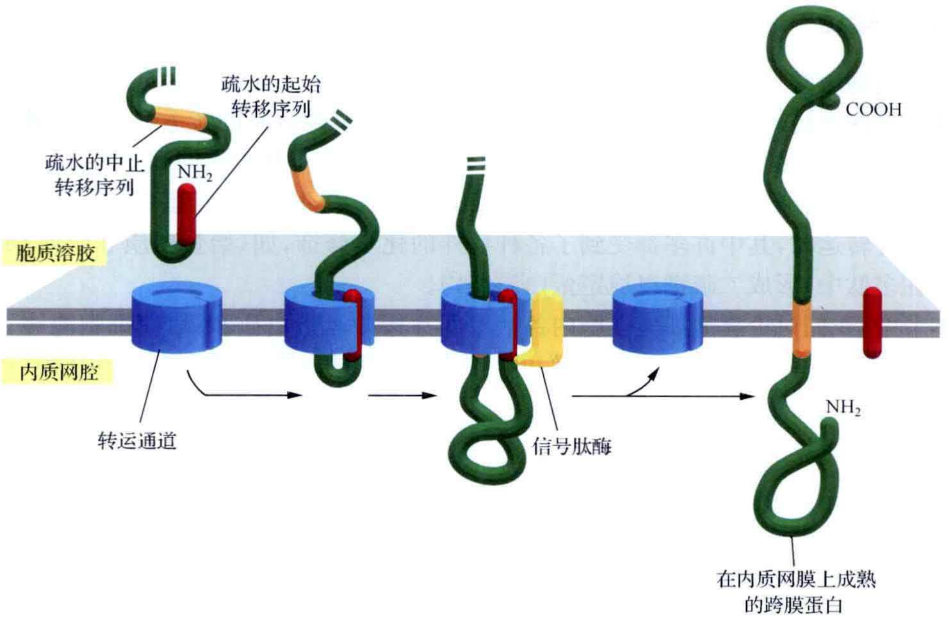


图 15-16 单次跨膜蛋白整被合在内质网膜中。N 端的一个内质网信号序列（红色）如在图 15-15 中那样启动转运。此外，蛋白质还含有第二个疏水序列，即终止转移序列（橙色）。当此序列进入转运通道，通道就侧向排放蛋白质进入脂双层。N 端信号序列被切除，留下跨膜蛋白锚定在膜中（视频 15.4）。在胞质溶胶一侧，蛋白质合成继续进行直至完成。

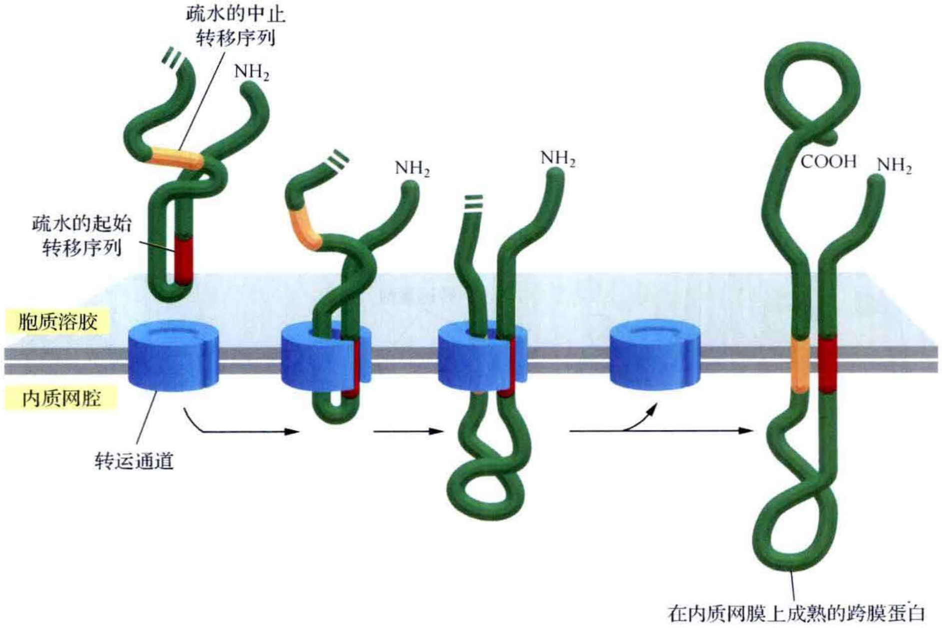


图 15-17 两次跨膜蛋白利用一个内部的起始转运序列整合在内质网膜中。一个内部的内质网信号序列（红色）起着起始转移信号的作用并启动多肽链的转移。和 N 端的内质网信号序列一样，内部的起始转移信号也被 SRP 识别，SRP 将核糖体带到内质网膜上（未显示）。当一个终止转移序列（橙色）进入转运通道，通道将两个序列都侧向排放进入脂双层平面。无论起始转移序列还是终止转移序列都不被切除，整个多肽链以两次跨膜蛋白质的形式锚定在膜中。多次跨膜的蛋白质含有更多对的终止和起始序列，每一对都重复上述相同的过程。

15.3 囊泡转运

进入内质网通常只是到达其他目的地的道路上的第一步。至少最近的其他目的地是高尔基体。从内质网到高尔基体，再从高尔基体到内膜系统的其他区室的转运都是通过**转运囊泡**不断出芽和融合来实现的。这些由囊泡介导的转运途径由内到外从内质网到质膜，由外到内从质膜到溶酶体，这就为细胞内部及其周围环境之间提供了联系的途径。在蛋白质和脂质沿着这些通路从内向外转运时，其中许多都受到了各种各样的化学修饰，如(给蛋白质和脂质)加上糖侧链，以及(在多肽中)形成二硫键以稳定蛋白质结构。

在本节中，我们讨论囊泡如何在胞内各区室间穿梭搬运蛋白质和膜，使细胞能够吞入和分泌。我们也探讨这些囊泡如何被导向它们的目的地，不管是内质网、高尔基体和质膜，还是其他膜包被区室。

15.3.1 转运囊泡携带可溶性蛋白质和膜来往于区室之间

在内膜系统中膜被区室间的**囊泡转运**是高度有序的。一个主要的向外的分泌途径是从内质网膜上蛋白质的生物合成开始，然后进入内质网，通过高尔基体到达细胞表面；在高尔基体还存在一条通过内体到溶酶体的支路(图 15-18)。一条主要的向内的胞吞途径是从质膜开始经内体到溶酶体转运物质，负责摄取和降解细胞外分子。

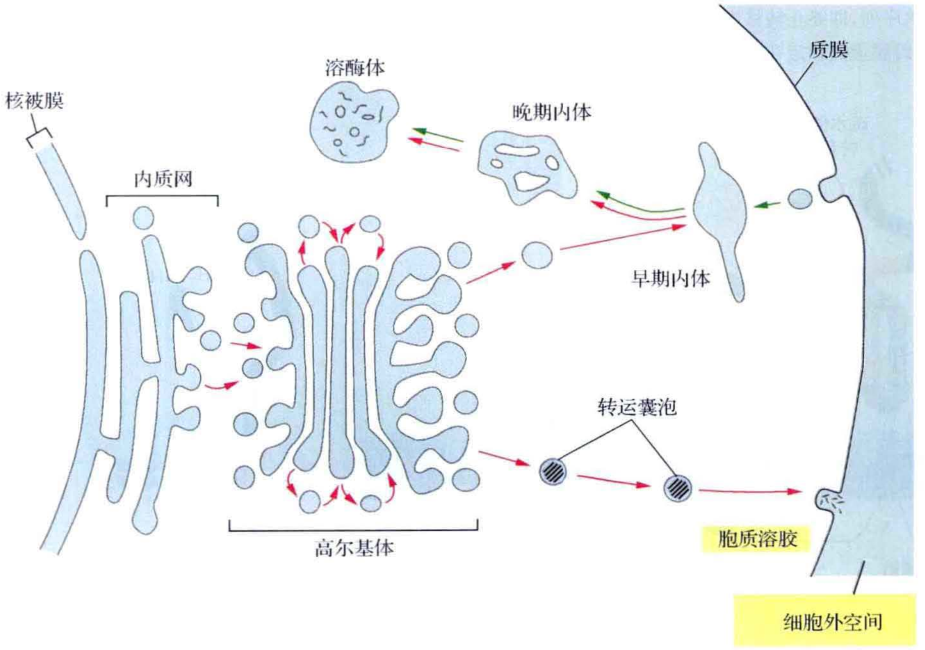


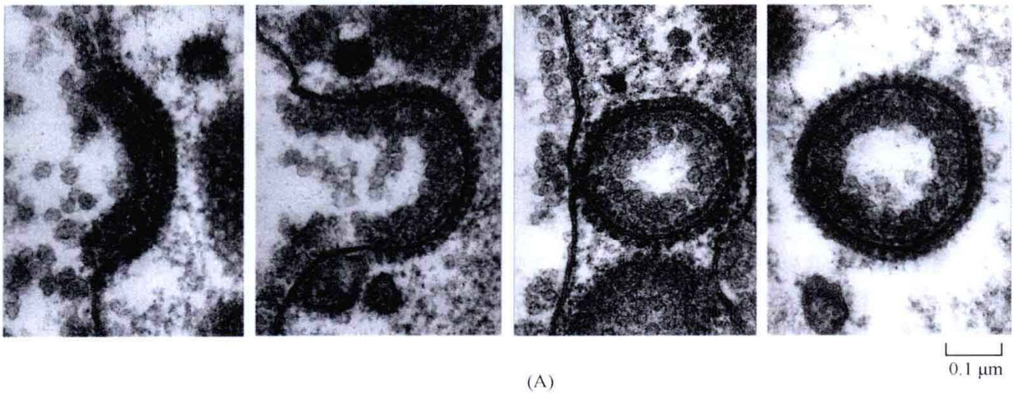
图 15-18 **囊泡从一个膜上出芽，再与另一个膜融合，带着膜组分和可溶性蛋白质在细胞区室间运输**。每一个区室封闭一个空间，或称为腔，拓扑学上等于细胞外(图 11-19)。如图所示，细胞外空间和每一个膜被区室(灰色阴影)通过转运囊泡的方式相互交流。向外分泌途径中(红箭头)，蛋白质分子从内质网转运出来，经过高尔基体，到达质膜或(通过早期或晚期内体)到达溶酶体。在向内分泌途径中(绿箭头)，细胞外分子被吞入来自质膜的囊泡并转运到早期内体，然后(通过晚期内体)到达溶酶体。

若要正确行使功能，每一个从区室芽生出来的转运囊泡必须仅带有它的目的地所需的合适蛋白质，并且必须仅与适当的靶膜融合。例如，一个囊泡带着货物从高尔基体到质膜，必须排除那些应该留在高尔基体中的蛋白质，而且必须仅与质膜融合而不和其他细胞器的膜融合。在参与这一持续的膜组分流动过程中，每个细胞器必须保持自己固有的特性，也就是说，保持自己独特的蛋白质和脂质组分。所有这些识别事件都取决于与转运囊泡膜相联系的蛋白质。正如我们即将看到的，不同类型的转运囊泡穿梭于各种细胞器之间，每一个都带着一套独特的分子。

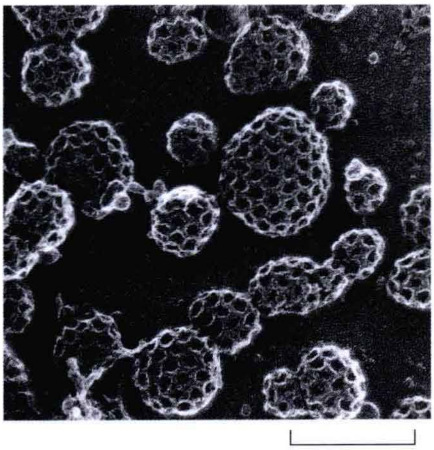
15.3.2 囊泡出芽由一种蛋白质外被的组装所驱动

从膜芽生出来的囊泡通常都在其胞质溶胶面具有明显的蛋白质外被，因此被称为**有被囊泡**。在从原先的细胞器出芽后，这些囊泡的外被脱落，使囊泡的膜可以直接与它要融合的膜相互作用。细胞中有许多不同的有被囊泡，每一种都有特定蛋白质外被。外被至少有两种功能：使膜形成芽的形状，并有助于捕获向外转运的分子。

研究得最清楚的是那些大部分外被由**网格蛋白**所组成的囊泡。这些网格蛋白包被囊泡从向外分泌途径中的高尔基体上，或是从向内胞吞途径中的质膜上芽生出来。例如，在质膜上，每一个囊泡最初都是从网格蛋白包被小窝开始的。网格蛋白分子在膜的胞质溶胶面上装配成篮子状的网络，也就是这个装配过程启动使膜形成囊泡(图 15-19)。一种小的称为动力蛋白的 GTP 结合蛋白在每一个深凹的小窝的颈部装配成环。动力蛋白和被招募到囊泡颈部的其他蛋白一起引起环收缩，从而将囊泡从膜上脱落下来。具有不同外被蛋白质的其他类型的转运囊泡也参与囊泡转运。它们以相同方法形成，并携带自己特有的一套分子，来往于内质网、高尔基体和质膜之间。但每个转运囊泡是如何选择自己独特的转运货物呢？有关机理在网格蛋白包被囊泡中是了解得最清楚的。



(A)



(B)

图 15-19 网格蛋白分子形成篮状笼结构，帮助膜形成囊泡。(A) 电镜照片显示从网格蛋白包被小窝到网格蛋白包被囊泡形成过程的系列事件。这里显示的网格蛋白包被小窝和囊泡特别大，它们是在鸡卵母细胞的质膜上形成的。它们参与把脂质和蛋白质组成的颗粒摄入卵母细胞以形成卵黄。(B)电镜照片显示从培养的皮肤细胞的质膜内表面芽生出许多网格蛋白包被小窝及囊泡。(A 由 M. M. Perry 和 A. B. Gilbert, *J. Cell Sci*. 39:257-272, 1979 提供。征得 The Company of Biologists Ltd. 同意；B 引自 J. Heuser, *J. Cell Biol*. 84:560-583, 1980。征得 Rockefeller University Press 同意)

网格蛋白本身并不参与挑选特定待转运分子。这一功能是由被称为衔接蛋白的第二类外被蛋白质行使的。衔接蛋白既保证网格蛋白外被与囊泡膜结合，同时也帮助挑选要转运的分子。等待向外转运的分子带有特定的转运信号，能被区室膜上的货物受体所识别。衔接蛋白通过捕获与它们结合的货物受体来帮助捕获特定的货物分子。通过这种方法，许多结合在其特定受体上的选定的货物分子被纳入每一个新形成的网格蛋白包被囊泡腔中(图 15-20)。细胞内也有不同类型的衔接蛋白:那些在质膜中与货物受体结合的衔接蛋白与在高尔基体中与货物受体结合的衔接蛋白是不同的，反映出不同来源的货物分子是不同的。

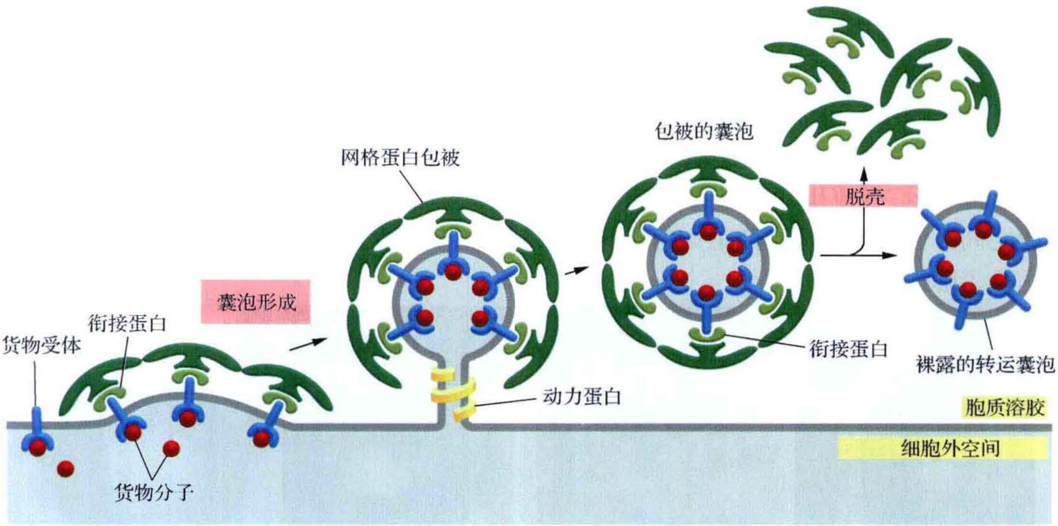


图 15-20 网格蛋白包被囊泡选择性地转运货物分子。货物受体及其结合的货物分子为衔接蛋白所捕获，衔接蛋白也将网格蛋白分子与芽生囊泡的胞质溶胶面结合(视频 15.5)。动力蛋白装配在芽生囊泡的茎部；一旦完成装配，动力蛋白分子便水解其结合的 GTP，并在招募到茎部的其他蛋白质(未显示)的帮助下，夹断囊泡。当出芽完成后，包被蛋白被去除，然后裸露的囊泡能和其靶膜融合。功能上类似的包被蛋白也存在于其他类型的包被囊泡中。

另一类被称为 COP 包被囊泡(COP 是“包被蛋白”的缩写)的有被囊泡参与在内质网和高尔基体之间，以及从高尔基体的一部分到另一部分之间的分子转运(表 15-4)。

表 15-4 有被囊泡的一些类型

有被囊泡类型	外被蛋白	起源	目的地
网格蛋白包被的	网格蛋白＋衔接蛋白 1	高尔基体	溶酶体(通过内体)
网格蛋白包被的	网格蛋白＋衔接蛋白 2	质膜	内体
COP 包被的	COP 蛋白	内质网	高尔基体
		高尔基扁平囊	高尔基扁平囊
		高尔基体	内质网

15.3.3 束缚蛋白和 SNARE 决定囊泡停靠的特定地点

在转运囊泡出芽离开膜后，它必须找到到达其正确目的地的道路以运送货物。在大多数情况下，囊泡依赖沿着细胞骨架丝运动的马达蛋白主动转运，这将在第 17 章中讨论。

一旦转运囊泡到达其靶细胞器，它必须识别并停靠在该细胞器。只有到那时囊泡膜才能和靶膜融合并卸下其货物。转运囊泡的严格专一性提示细胞中每种类型的转运囊泡在其表面都带有辨别其起源和所载货物的分子标记。这些标记必须被包括质膜在内的合适靶膜上的互补受体所

识别。这种识别过程依赖于一类被称为 **Rab 蛋白**的蛋白质家族。囊泡表面的 Rab 蛋白被靶膜胞质溶胶面的束缚蛋白(tethering protein)所识别。每种细胞器和每种转运囊泡都带有独特的 Rab 蛋白组合,它们作为识别每种膜的分子标记。这种 Rab 和束缚蛋白的编码系统有助于保证转运囊泡只与正确的膜融合。另外的识别是由一类被称为 **SNARE** 的跨膜蛋白质家族介导的。一旦束缚蛋白通过与其对应的 Rab 蛋白结合而抓住囊泡后,囊泡上的 SNARE(称作 v-SNARE)与其靶膜胞上的互补 SNARE(称作 t-SNARE)相互作用,从而帮助囊泡停靠在合适的位置上(图 15-21)。

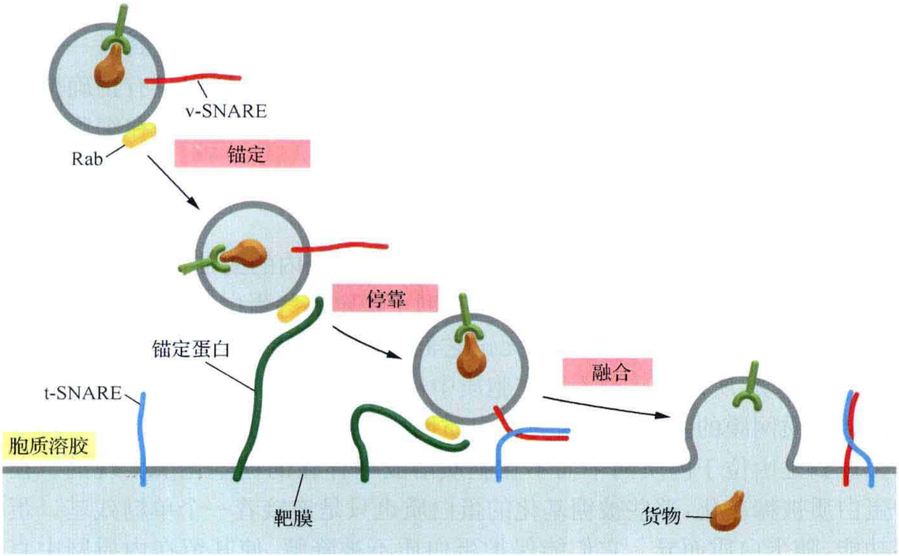


图 15-21　Rab 蛋白和 SNARE 帮助指导转运囊泡到达它们的靶膜。膜上的一个丝状的束缚蛋白结合到囊泡表面的 Rab 蛋白上。这种相互作用使得囊泡停靠在靶膜的表面。然后囊泡上的 v-SNARE 与靶膜上的互补的 t-SNARE 结合。尽管 Rab 和束缚蛋白提供了囊泡及其靶膜之间的起始的识别,互补的 SNARE 之间的配对也帮助保证转运囊泡到达它们合适的靶膜。

一旦转运囊泡识别其靶膜并停靠在那里,囊泡就必须与膜融合并卸下其所带货物。融合不仅将囊泡的内含物送入细胞器内部,而且也把囊泡膜加到细胞器膜中。然而,膜融合并不总是在停靠后立即发生,有时它需要等待特殊的分子信号。停靠只需要两层膜靠得足够近以使突出在两层脂双层膜上的蛋白质能相互作用,而融合则要求更为密切的接近:两个脂双层必须彼此相距 1.5 nm 以内其磷脂才能融合。要形成这种紧密接触,必须把水分子从膜亲水表面移走——这个过程在能量方面是非常不利的,因而阻止了膜的随机融合。所以细胞中所有的膜融合都必须由特定蛋白质所催化,这些蛋白质在融合部位装配成融合复合物,提供了跨越能量障碍的方法。SNARE 蛋白本身就在融合过程中发挥核心作用:v-SNARE 和 t-SNARE 配对后,它们彼此环绕,因此就像绞车一样把两层膜拉到极为贴近从而起作用(图 15-22)。

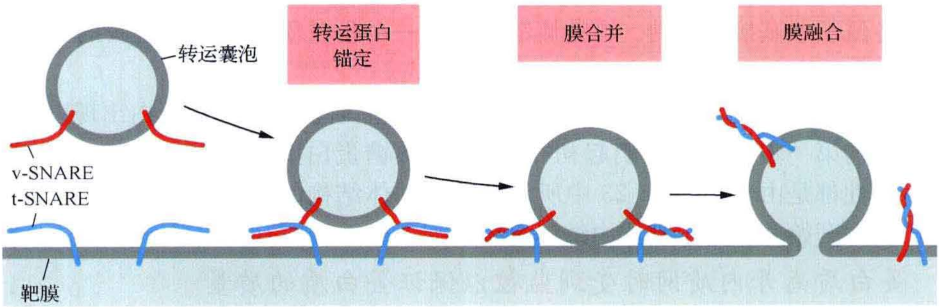


图 15-22　SNARE 蛋白在膜融合中起核心作用。v-SNARE 和 t-SNARE 的配对把两个脂双层拉到了很近的位置。SNARE 缠绕在一起的力量挤出了原本困在两层膜之间的任何水分子,允许它们的脂质能一起流动以形成一个连续的双层。在一个细胞中,招募到融合部位的其他蛋白质可能与 SNARE 合作以起始融合。其他蛋白质帮助撬开 SNARE 以使它们能被再次利用。

15.4 分泌途径

囊泡运输并不局限于细胞内部。它也可以运往质膜或自质膜运入。新合成的蛋白质、脂质和糖从内质网释出，由转运囊泡经高尔基体到达细胞表面，在那里转运囊泡通过一个被称为**胞吐**的过程与质膜融合。每一个沿着这条路线行进的分子都要经过膜被区室的一个固定序列，而且在途中常常受到化学修饰。

在本节中，我们将沿着蛋白质自内向外的分泌途径，从合成和修饰蛋白质的内质网开始，经过对它们进一步修饰和分选的高尔基体，一直到达质膜。在一个蛋白质从一个区室到另一个区室过程中，它一直受到监督以检查其折叠是否正确，是否与合适的伴侣结合，所以只有正确构建的蛋白质才能被释放到细胞表面，而所有其他的蛋白质，尽管它们往往是大多数，则在细胞内被降解。

15.4.1 大多数蛋白质在内质网中被共价修饰

大多数进入内质网的蛋白质都在那里被化学修饰。位于内质网腔内的酶催化化学反应，通过氧化一对半胱氨酸侧链产生*二硫键*(图 4-26)。二硫键有助于稳定那些蛋白质的结构，因为它们可能会在细胞外部遇到 pH 的改变和降解酶——无论它们是在分泌出去以后还是掺入质膜中。由于胞质溶胶中的还原环境，所以二硫键不会在胞质中形成。

许多进入内质网腔或内质网膜的蛋白质都因为在内质网中共价结合了短寡糖侧链而转变为糖蛋白。这个*糖基化过程*是由位于内质网中而不在胞质溶胶中存在的糖基化酶实现的。在胞质溶胶中只有极少蛋白质被糖基化，那些被糖基化的蛋白质也只是连接着一个单糖残基。蛋白质上的寡糖有许多功能，随蛋白质而异。它们能保护蛋白质不被降解，使其留在内质网中直到被正确折叠，或者起一种转运信号的作用，使蛋白质包装进适当的转运囊泡中，从而有助于引导其到适当的细胞器中去。当位于细胞表面时，寡糖形成糖基化层的一部分(图 11-35)并能在细胞间的识别中起作用。

在内质网中，单个的糖并不是一个一个地加到蛋白质上形成寡糖侧链的。相反，一种预先形成的含有总数为 14 个糖的分支寡糖被整个地接到所有带有合适的糖基化位点的蛋白质上。这个寡糖最初附着在内质网膜上的一种被称为*多萜醇*的特殊脂质上；后来，在蛋白质转移过程中，当内质网腔内出现天冬酰胺以后，这个寡糖立刻被转移到蛋白质的天冬酰胺侧链的氨基(NH_2)上(图 15-23)。这种添加发生在一个由一种膜结合酶(一种寡糖蛋白转移酶)所催化的单个酶促步骤中，这种酶的活性部位位于内质网膜的腔面——这就解释了为什么胞质溶胶中的蛋白不以这种方法糖基化。一种包含天冬酰胺在内的简单的三个氨基酸组成的序列决定了蛋白质中哪个天冬酰胺残基接受寡糖。寡糖侧链连接在一个蛋白质中的天冬酰胺的 NH_2 基上，称作 *N 连接*，它是目前为止最普遍的糖蛋白的连接方式。

在内质网中加上 14 个糖的寡糖只是在向外途径最后阶段的成熟糖蛋白出现以前的一系列进一步修饰中的第一步。虽然它们起初相似，但成熟糖蛋白上的 N 连接的寡糖却各不相同。所有这些多样性都是由于对图 15-23 中所示的最初前体结构的广泛修饰的结果。这种*寡糖化加工*从内质网中开始并在高尔基体中继续进行。

15.4.2 蛋白质离开内质网时受到监控以保证蛋白质的质量

某些在内质网内合成的蛋白质是预定要在内质网行使功能的，它们留在内质网内(当它们逸入高尔基体时还得回到内质网)。这是由于其 C 端有一个由 4 个氨基酸构成的序列，称作*内质网保留信号*(表 15-3)。这种内质网保留信号能被内质网和高尔基体上的膜结合受体蛋白所

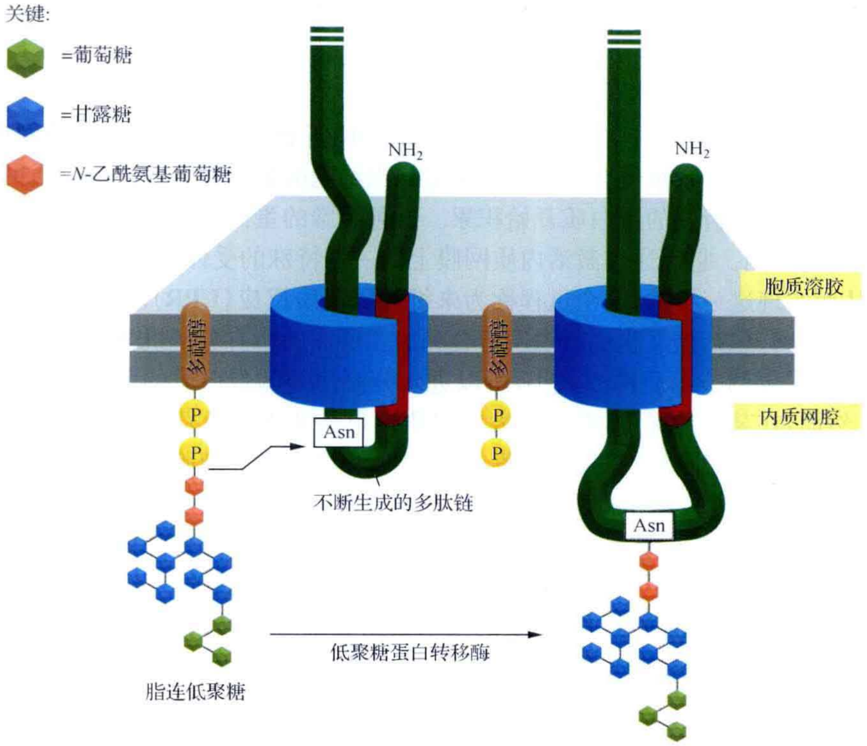


图 15-23 许多蛋白质在内质网中被糖基化。几乎在多肽链进入内质网腔的同时，它就被糖基化，在多肽链特定的天冬酰胺位置被加上寡糖侧链。每一个寡糖链在寡糖基转移酶（未显示）的催化下，作为一个完整的单元从一种被称为多萜醇的脂质上转移到天冬酰胺上。糖基化的天冬酰胺通常位于三肽序列天冬酰胺—X—丝氨酸或天冬酰胺—X—苏氨酸之中，其中 X 可以为任一氨基酸。

识别。然而，大多数进入内质网的蛋白质是预定要到其他地方去的；它们被包装在转运囊泡中从内质网芽生并与高尔基体融合。离开内质网是高度选择性的。未正确折叠的蛋白质及装配不恰当的二聚或多聚的蛋白质，会通过与内质网中的伴侣蛋白结合而被扣留在内质网中。与伴侣蛋白的相互作用将蛋白质扣留在内质网中直到正确的折叠，如果不能正确折叠，则蛋白质最终被降解（图 15-24）。例如，抗体分子由 4 条多肽链组成（图 4-29），它们在内质网中装配成完整的抗体分子。部分装配的抗体被扣留在内质网中直到所有 4 条多肽链都装配好为止；任何未正确装配的抗体分子最终都被降解。通过这种方式，内质网控制着运往高尔基体的蛋白质的质量。

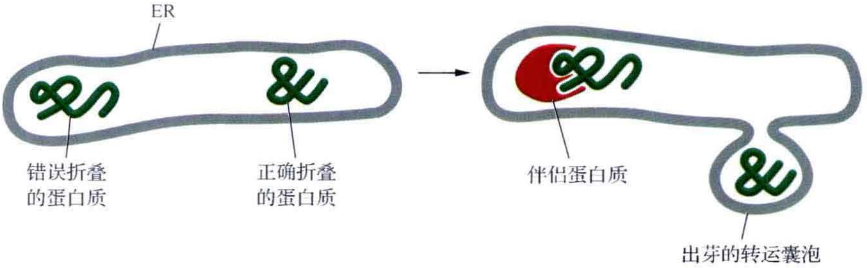


图 15-24 伴侣蛋白阻止错误折叠或部分装配的蛋白质离开内质网。错误折叠的蛋白质与伴侣蛋白在内质网腔内结合而被拘留，而正常折叠的蛋白质则通过转运囊泡运往高尔基体。如果错误折叠的蛋白质不能重新正常折叠，它们将被运回胞质溶胶中并在那里被降解。

但是，有时质量监控机制会对机体不利。例如，常见的导致严重肺纤维样变形的遗传病囊性纤维化，其显性突变会产生一种轻微错误折叠的质膜转运蛋白；尽管这个变异蛋白质如能到达质膜也能正常行使氯通道的功能，但是它被扣留在内质网中，最终引起了可怕的后果。这种

破坏性的病变并不是由突变导致的一个重要蛋白质的失活所引起的，而是由于细胞抛弃了有活性的蛋白质，不给它行使功能的机会。

15.4.3 内质网的大小由流经它的蛋白质的数量决定

尽管伴侣蛋白帮助内质网中的蛋白质正确折叠，并把未正确折叠的蛋白质留在内质网中，但是当蛋白质合成非常旺盛，这个系统便会变得不知所措。当细胞的蛋白质合成超过内质网的转运和折叠的能力的时候，错误折叠的蛋白质开始积累。这种异常的蛋白质实际上作为一种信号指导细胞制造更多的内质网。它们通过激活内质网膜上的一群特殊的受体，这些受体进而激活大量的转录程序，从而实现这一目的，这个过程称为**未折叠蛋白质反应(UPR)**。UPR 程序促使细胞制造出更多的内质网，包括恢复正确蛋白质折叠和加工所需的所有分子机器(图 15-25)。UPR 程序使得细胞按照需要调节内质网的大小，所以进入分泌途径的蛋白质的负载都将会被正确和有效地折叠。然而，在某些情况下，即使扩大的内质网也会变得超负荷。如果不能建立一个合适的平衡——错误折叠的蛋白质将持续积累——UPR 程序会指导细胞进行细胞凋亡而自我毁灭。这种情况会出现在成人型糖尿病中，那些患者的身体组织逐渐产生对胰岛素效果的抗性。由于胰腺中的胰岛素分泌细胞被要求合成越来越多的胰岛素，它们的内质网将达到最大容量，此时进一步扩展在生理上成为不可能。那时 UPR 程序将启动细胞死亡。不幸的是，因为许多胰岛素分泌细胞被杀死了，制造额外的胰岛素的要求就落在那些存活的细胞身上，加重它们的内质网的负担，也使得它们更容易死亡。这种胰岛素制造细胞的不断升级的死亡加剧了病情。

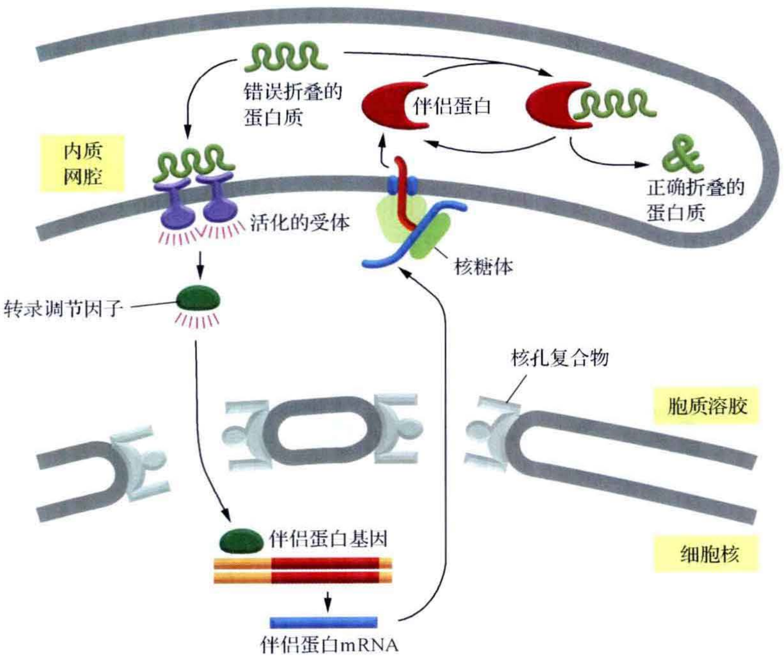


图 15-25 内质网腔中错误折叠的蛋白质触发了伴侣蛋白的产生和内质网的扩大。错误折叠蛋白质结合到受体上刺激了转录调控蛋白的产生。这些蛋白质转运到核里激活了编码伴侣蛋白和其他内质网组分的基因，因此促进了蛋白质的正确折叠和加工。这个系统被称为未折叠蛋白质反应。

15.4.4 蛋白质在高尔基体内被进一步修饰和分选

高尔基体通常位于核附近，在动物细胞中也常靠近中心体，那是一个位于细胞中央附近的小结构。高尔基体由一组扁平的、被膜的囊(*扁平囊*)组成，它们很像一叠盘子堆砌在一起。每叠含有 3～20 个扁平囊(图 15-26)。每个细胞中高尔基叠层数量变化很大，取决于细胞的类型：有些细胞只有一个大的叠层，而另一些则含有数百个非常小的叠层。

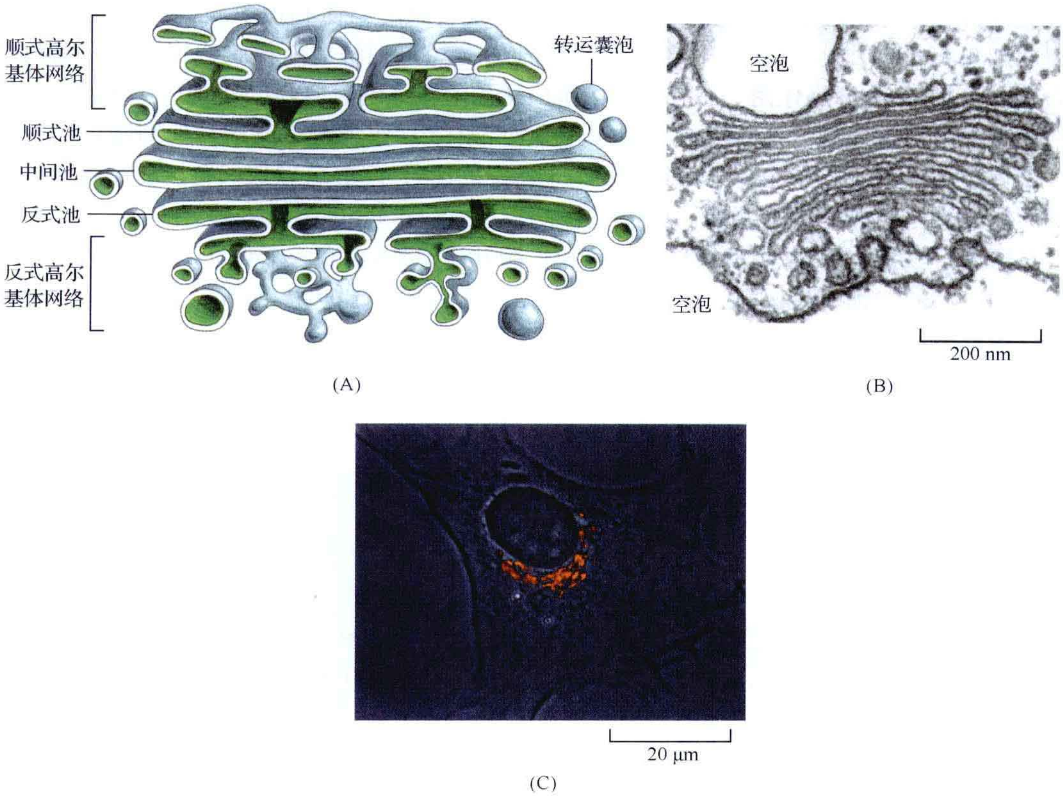


图 15-26　高尔基体由一堆扁平的膜包被的囊组成。(A) 根据一个动物分泌细胞的高尔基体电镜照片进行的高尔基体叠层结构的三维重建图。要了解这个三维模型是如何重建的，请看视频 15.6。(B) 植物细胞高尔基体叠层结构的电镜照片，高尔基体结构特别清晰。高尔基体取向与(A)相同。(C) 培养的成纤维细胞的高尔基体，用荧光标记的抗体进行染色，可专一性地标记高尔基体。(A 从 A. Rambourg 和 Y. Clermont, *Eur. J. Cell Biol.* 51:189-200, 1990 重绘，征得 Elsevier 同意；B 由 George Palade 提供；C 由 John Henley 和 Mark McNiven 提供)

每个叠层有两个不同的面：一个是入口，即*顺式面*；一个是出口，即*反式面*。顺式面靠近内质网，而反式面则指向质膜。每一面最外的扁平囊与互相连接的膜管和膜泡的网络相连(图 15-26A)。可溶性蛋白和膜通过内质网生出的转运囊泡进入*顺式高尔基体网络*。蛋白质借助于从一个扁平囊芽生再与下一个扁平囊融合的转运囊泡依次通过一系列的扁平囊。离开*反式高尔基体网络*的转运囊泡蛋白质不是到达细胞表面就是到达其他的区室(图 15-18)。顺式和反式高尔基体网络都被认为在蛋白质分选中起重要作用：进入顺式高尔基体网络的蛋白质既能往前移动通过高尔基叠层，或者如果它们含有一个内质网滞留信号，又可回到内质网；蛋白质离开反式高尔基体网络时根据它们的目的地是溶酶体还是细胞表面再被分选。后面我们将在“我们如何得知”中讨论一些通过反式高尔基体网络分选的例子。

许多在内质网中加到蛋白质上的寡糖基团在高尔基体中受到进一步的修饰。例如，在某些蛋白质上，复杂的寡糖链是由一个高度有序的过程产生的，在此过程中，当蛋白质通过高尔基叠层时，一系列酶按照严格规定的顺序起作用加上和去除糖。一个酶在加工事件链中的位置及其在高尔基叠层中的定位之间有着清楚的相关性：较早起作用的酶存在于靠近顺式面的扁平囊中，而较晚起作用的酶则位于靠近反式面的扁平囊中。

15.4.5　分泌蛋白通过胞吐作用自细胞中释出

在所有真核细胞中，有一个稳定的囊泡流从反式高尔基体网络芽生出来并与质膜融合。这

一组成性的胞吐途径连续不断地工作，向质膜提供新合成的脂质和蛋白质（视频 15.7）。这是分裂前细胞增大时质膜生长的一个途径。组成性的途径也把将对外释放的蛋白质运载到细胞表面，这个过程称为**分泌作用**。有些释出的蛋白质黏附在细胞表面，成为质膜的周边蛋白；有些蛋白质整合进细胞外基质；还有一些扩散到细胞外液体中，作为营养或给其他细胞以信号的作用。因为进入这个非选择性途径并不需要一个特定的信号序列（就像那些直接前往溶酶体或返回内质网的蛋白质那样），所以有时也被认为是默认途径（default pathway）。

在所有真核细胞中，除了持续作用的组成性胞吐途径外，还有一个调节性胞吐途径，它只在那些专门分泌的细胞中起作用。特化的分泌细胞产生大量特定产物，如激素、黏液或消化酶，它们都储藏在**分泌囊泡**中以备后用。这些囊泡自反式高尔基体网络上芽生出来并在质膜附近积累。它们在那里等待刺激它们与质膜融合并向细胞外释放其内含物的胞外信号（图 15-27）。例如，血糖增加就给了胰岛细胞分泌胰岛素的信号（图 15-28）。

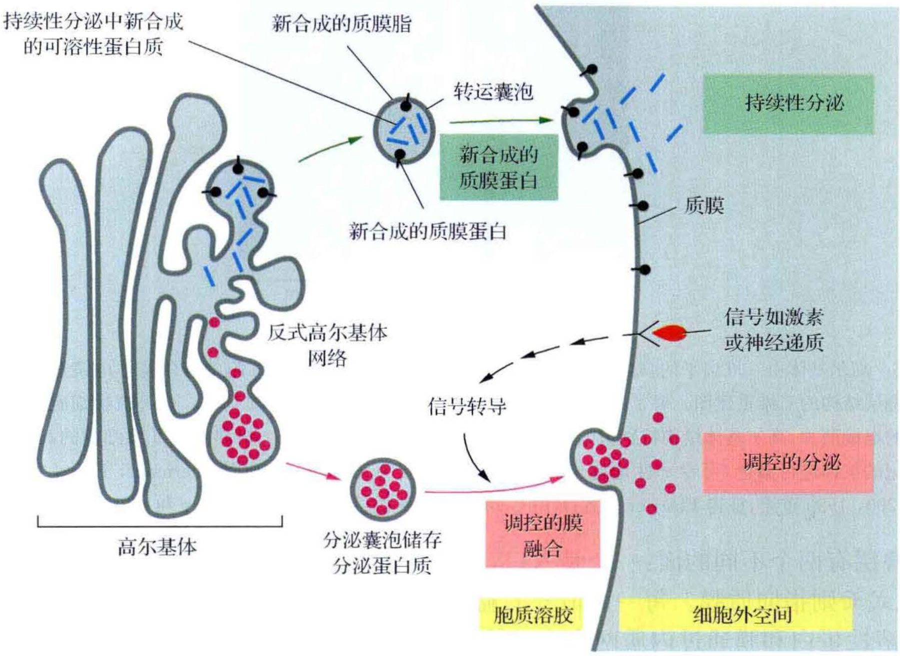


图 15-27　**在分泌细胞中，胞吐的调节性和组成性途径在反式高尔基体网络中分流。**许多可溶性蛋白质不断通过组成性分泌途径从细胞中分泌出来，所有细胞都有这种途径（视频 15.8）。这种途径也不断为质膜提供新合成的脂质和蛋白质。另外，特殊的分泌细胞还有一个调节性的分泌途径，通过这种途径，反式高尔基体网络中一些被选中的蛋白质被转移到分泌囊泡中，在那里蛋白质被浓缩和储藏，直到胞外信号刺激它们分泌。至今仍然不清楚聚集的分泌蛋白是如何被分泌囊泡隔离开来。分泌囊泡在其膜上有独特的蛋白质，可能其中一些蛋白质作为在反式高尔基体网络聚集的分泌蛋白的受体起作用。

预定走调节性分泌的蛋白质在反式高尔基体网络中进行分选和包装。走这条途径的蛋白质有着特殊的表面性质，使得它们能在反式高尔基体网络中占优势的离子条件下（酸性 pH 和高 Ca^{2+}）彼此聚集。这些聚集的蛋白质被包装进分泌囊泡，随后从高尔基体网络上掐断，并等待指导它们与质膜融合的信号。另外，通过组成性途径分泌的蛋白质并不聚集，它们由组成性途径的转运囊泡自动地运到质膜。选择性的聚集还有其他功能：它使得在分泌囊泡中分泌蛋白的包装浓度高于在高尔基体腔内未聚集的蛋白质的浓度。这种浓度的增加可以达到 200 倍，使得分泌细胞被激发时能迅速释放大量蛋白质（图 15-28）。

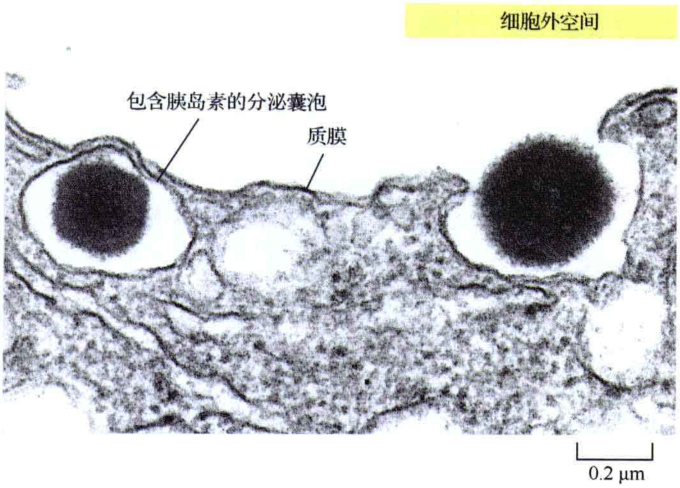


图 15-28　分泌囊泡包裹和释放集中聚集的蛋白质。电镜照片显示胰岛素从一个胰腺 β-细胞的分泌囊泡中释放到细胞外空间中。胰岛素以高浓度的形式储存在每一个分泌囊泡中，当血液中葡萄糖水平升高，细胞得到分泌信号时，胰岛素才释放出去。（由 Lelio Orci 提供，来自 L. Oric，J. D. Vassali 和 A. Perrelet，*Sci. Am.* 259：85-94，1988。征得 Scientific American 同意）

当一个分泌囊泡或转运囊泡与质膜融合并以胞吐方式排出其内含物时，其膜便成为质膜的一部分。虽然这将大大增加质膜的表面积，但这是非常短暂的，因为膜组分以几乎与胞吐增加膜面积一样快的速度在细胞表面其他部位通过胞吞作用被移除。这种移除将囊泡膜的脂质和蛋白质都返回给高尔基网络，在那里它们能被再次利用。

15.5　胞吞途径

真核细胞不断通过胞吞作用过程摄入液体以及大大小小的分子。特化的细胞也能内化大的颗粒甚至其他细胞。被摄入的物质逐渐被小部分质膜所包围，它首先向内出芽然后断离，形成细胞内的胞吞囊泡。被摄入的物质最终被送到溶酶体中，在那里被消化。消化产生的代谢产物直接从溶酶体中运出到胞质溶胶中，在那里它们可以被细胞利用。

根据形成的胞吞囊泡的大小，可以把**胞吞**分成两个主要类型。胞饮（"细胞喝东西"）涉及细胞通过小囊泡（直径＜150 nm）摄入液体和分子。吞噬（"细胞吃东西"）涉及通过被称为吞噬体的较大的囊泡（一般直径＞250 nm）摄入微生物和细胞碎片等大颗粒。尽管所有真核细胞都不断通过胞饮摄入液体和分子，但大颗粒主要是由特化的吞噬细胞摄入的。

在本章的最后一节中，我们追踪从质膜直到溶酶体的胞吞途径。我们首先开始讨论通过吞噬摄取大颗粒的途径。

我们如何得知：追踪蛋白质和囊泡运输

这些年来，生物学家利用多种技术去解开有关蛋白质如何被分类并运输进出细胞及其驻留的细胞器的通路和机制。之前我们知道，通过转移一个 ER 信号序列到一个胞质蛋白，研究者们确定了这样的信号肽可导向蛋白到特定的细胞内区域如 ER（图 15-6）。但这样的信号-交换实验并不是唯一追踪蛋白质在细胞中行踪的方式。生物化学、遗传学和分子生物学以及显微镜技术也提供了研究蛋白质如何从细胞内的一个区域穿梭到另一个区域的方法。在一些情况下，这些方法可以被用来实时追踪活细胞内蛋白质的迁移和囊泡运输。

在试管里

一个携带信号序列的蛋白质可以被加入到一个装有分离的细胞器的试管中。随后，检测这些混合物，看蛋白质是否被待测细胞器吸收。蛋白质经常在体外利用无细胞体系来翻译编码该多肽的 mRNA；在这个过程中，放射性氨基酸被用来标记这些蛋白质，因此这些蛋白质很容易被分离和追踪。被标记的蛋白质和选出来的细胞器一起孵育，它的迁移可以被众多方法监测。

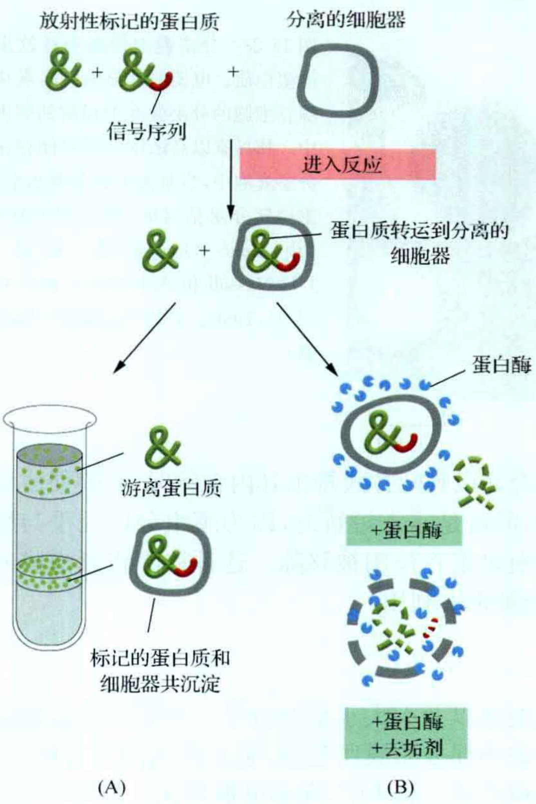


图 15-29 几种方法可以用来衡量蛋白质携带的特定信号序列是否转运到分离好的细胞器中。（A）携带或不携带信号序列的标记蛋白质和细胞器一起孵育，这些准备好的细胞器是离心过的。只有携带信号序列的标记的蛋白才会被转运，因此也会和细胞器一起分离。（B）标记的蛋白质和细胞器一起孵育，加入一种蛋白酶。在蛋白酶消化过程中转运的蛋白质被选择性地保护；加入破坏细胞器膜的去垢剂可以扰乱这种保护作用，并且转运的蛋白质也会被降解。

在酵母里

利用遗传学技术蛋白质借助转运囊泡在不同胞内区域的移动已经被广泛地研究。通过对高温时有分泌缺陷的突变酵母细胞进行研究，已经发现有超过 25 个基因与胞吐有关。很多这些突变的基因编码温度敏感型蛋白，这些蛋白质参与运输和分泌过程。突变的蛋白质在 25℃时功能正常，但是，当酵母细胞在 35℃培养时，它就失活。结果，当研究者升高温度时，本应分泌的蛋白质异常地积累在 ER 中以及高尔基体和转运囊泡中。

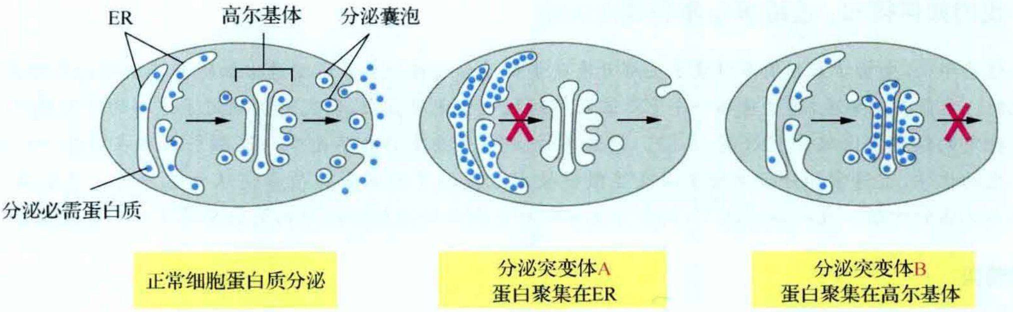


图 15-30 温度敏感性突变体被用来研究酵母中的蛋白质分泌途径。转运过程中不同阶段的基因突变导致 ER、高尔基体或者转运囊泡中蛋白质的聚集。例如，A 突变阻断 ER 到高尔基体的转运将造成 ER 中蛋白质的堆积。B 突变阻断高尔基体来的蛋白质通道将造成细胞器内蛋白质的堆积。

在视频里

跟踪一个蛋白质在细胞内运动的最直观的办法莫过于用绿色荧光蛋白标记多肽。用在第 10 章讨论过的遗传工程技术，这个小蛋白质可以与其他细胞蛋白质融合。幸运的是，对大部分研究过的蛋白质，这一额外的 GFP 不会干扰分子的正常功能和转运。GFP-标记的蛋白质的运动可以通过荧光显微镜在活细胞内被监测。

GFP 融合蛋白被广泛地应用于细胞内蛋白质定位和运动的研究(图 15-31)。例如，GFP 与穿梭于核内外的蛋白质融合可以被用来研究核转运事件。GFP 与质膜蛋白融合可以被用来衡量蛋白质运动在分泌途径中的动力学。这本书附带 DVD 中的视频展示了这项技术的能力和优美。

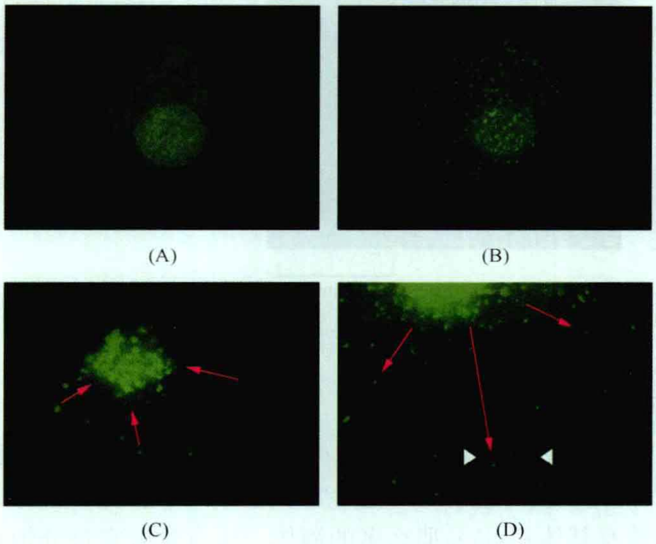


图 15-31 GFP 融合使蛋白质在细胞内可以被跟踪。在这个实验中，GFP 被融合到病毒包被的蛋白质中并且表达在培养的细胞里。在感染的细胞里，病毒蛋白将通过分泌途径从 ER 移动到细胞表面，在这里病毒颗粒可以被组装。这个实验中病毒包被的蛋白质包含了一个突变体，这使从 ER 的出口蛋白质限于低温。(A)在高温下，融合蛋白标记 ER；(B) 当温度降低，GFP 融合蛋白在 ER 出口区迅速聚集；(C)融合蛋白移动到高尔基体；(D)最后，融合蛋白释放到质膜，这里展示的是高倍特写视图。箭头之间的晕圈标记了已经融合的单个囊泡的定位，这些囊泡已经排出病毒包被的蛋白质而进入质膜。(A～D，经 Jennifer Lippincott-Schwartz 允许)

15.5.1 特化的吞噬细胞摄入大颗粒

最引人注目的胞吞形式是**吞噬**，它在一百多年前被首次观察到。在原生动物中，吞噬是摄食的一种方式：这些单细胞真核生物通过把大颗粒装进吞噬小体的方式摄入细菌等大颗粒(视频 15.9)。然后吞噬小体与溶酶体融合，在那里食物颗粒被消化。在多细胞生物中，只有少数细胞能有效地摄取大颗粒。例如，在动物消化道中，大颗粒的食物在被消化道内衬的吸收细胞摄入前，必须被细胞外的消化酶降解为单个分子。

然而，在大多数动物中，吞噬对除营养之外的目的来说是很重要的。**吞噬细胞**——包括广泛分布在组织中的巨噬细胞和其他一些白细胞——通过吞噬入侵的微生物保护我们抵御感染。被吞颗粒必须首先与吞噬细胞表面结合，并激活许多表面受体的其中之一，才能被巨噬细胞或其他白细胞摄取。其中一些受体能识别抗体，即一类能通过结合在微生物表面从而保护我们免受感染的蛋白质。这些被覆抗体的细菌与这些受体的结合，诱导了吞噬细胞伸出称作伪足的质膜的片状突出物，将细菌吞入(图 15-32A)，接着在其顶端融合形成一个吞噬小体。后随吞噬小体与溶酶体融合，微生物被消化。一些致病微生物进化出了颠覆这一系统的技巧：例如，导致结核病的主因结核分枝杆菌能抑制吞噬小体与溶酶体的膜融合。被吞噬的细菌能够存活下来并在巨噬细胞内倍增，而不是被破坏。细菌是如何完成这一任务的目前还不清楚。

吞噬细胞在清除死细胞、受伤细胞以及细胞碎片方面也起了重要作用。例如，巨噬细胞每天吞食 10^{11} 个以上的衰老的红细胞(图 15-32B)。

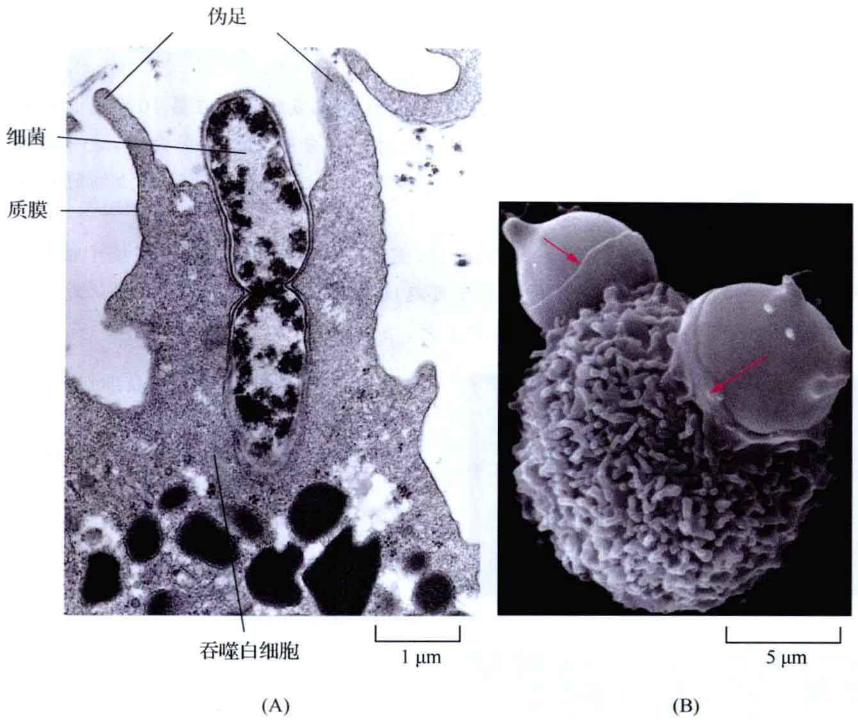


图 15-32 吞噬细胞摄取其他细胞。(A) 正在摄取一个处于分裂期细菌的吞噬性白细胞(中性白细胞)的电镜照片;(B) 一个正在吞噬两个红细胞的巨噬细胞的扫描电镜照片。当红细胞被巨噬细胞挤压时,它们是畸形的。红色箭头指出薄层的膜——伪足的边缘,巨噬细胞正伸出像衣领一样的伪足包围它们的猎物。(A 由 Dorothy F. Bainton 提供。B 由 Jean Paul Revel 提供)

15.5.2 液体和大分子通过胞饮作用被摄入

真核细胞不断以小胞饮囊泡的形式摄入它们的少量质膜以及少量细胞外液体,这些小胞饮囊泡随后将回到细胞表面。通过**胞饮**而内化质膜的速率随细胞类型不同而不同,但通常都惊人地大。例如,一个巨噬细胞每小时吞入约有其体积 25%那么多的液体。这意味着它每分钟移除其质膜的 3%,或者说约半小时移除 100%质膜。成纤维细胞胞吞速率略低,而某些吞噬变形虫以更快的速度摄入其质膜。由于在此过程中细胞的总表面积和体积保持不变,显然有与胞吞移除的膜一样多的膜通过囊泡融合(胞吐)被加到细胞表面。

胞饮主要由网格蛋白包被小窝和囊泡执行,在前面我们已经讨论过了(图 15-19,图 15-20)。当网格蛋白包被囊泡从质膜断离后,它们很快脱去其包被并和内体融合。当有被小窝内陷形成有被囊泡的同时,细胞外液体被捕获进有被小窝,因而溶解在细胞外液体中的物质被内化并运送到内体中。这些液体的摄入通常与胞吐过程中的液体损失是平衡的。

15.5.3 受体介导的胞吞作用提供一条进入动物细胞的特殊途径

正如前面所说,胞饮是没有选择性的。胞吞囊泡简单地捕获正巧在细胞外液体中的任何分子并将它们带入细胞。然而,在大多数动物细胞中,通过网格蛋白包被囊泡的胞饮作用还提供了从细胞外液体中摄取特定大分子的有效途径。大分子结合在细胞表面的互补受体上,以受体大分子复合物形式包入网格蛋白包被囊泡从而进入细胞。这个被称为**受体介导的胞吞作用**的过程,提供了一种选择性的浓缩机理,使内化特定大分子的效率比一般胞饮增加 1000 倍以上,因而即使是细胞外液体中的微量成分也能被大量摄取而不必摄入相应大量的细胞外液体。受体介导的胞吞作用的一个重要例子就是动物细胞以此方式摄入合成新膜所需的胆固醇。

胆固醇极难溶解,它以被称作低密度脂蛋白或 LDL 的颗粒形式与蛋白质结合在血流中转运。LDL 结合到位于细胞表面的受体上,受体-LDL 复合物被受体介导的胞吞作用摄入并转运

到内体。内体内部具有比其周围的胞质溶胶或细胞外液体更强的酸性，在此酸性环境中 LDL 与其受体分离：受体通过转运囊泡回到质膜重新被利用，而 LDL 则被转运到溶酶体中。在溶酶体内，LDL 被水解酶降解。胆固醇被释放并逸入胞质溶胶中，在那里供新膜合成之用。细胞表面的 LDL 受体，不管其上是否有 LDL 结合，都不断内化和再循环（图 15-33）。

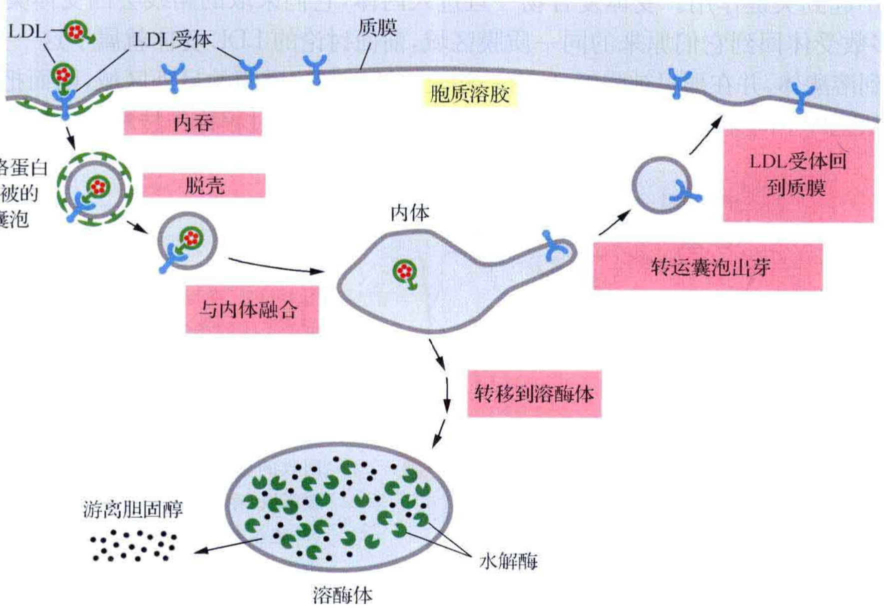


图 15-33 LDL 通过受体介导的内吞途径进入细胞。LDL 与细胞表面的受体结合，并被内化到网格蛋白包被的囊泡中。囊泡失去其外被，然后与内体融合。在内体的酸性环境中，LDL 从其受体上解离下来。尽管 LDL 最后到溶酶体中降解并释放出游离的胆固醇，但是 LDL 受体却是通过转运囊泡回到质膜而被再次利用（视频 15.10）。为简化起见，只画了一个 LDL 受体进入细胞并回到质膜。无论 LDL 受体是否结合着 LDL，在通常情况下，一个 LDL 受体总是每 10 min 到细胞内流转一圈，在其 20 h 的寿命历程中共流转好几百圈。

在遗传了编码 LDL 受体蛋白的基因缺陷的个体中，胆固醇摄入的通路被阻断。在某些病例中，受体是缺失的；而在另一些病例中，受体存在但是没有功能。不论在哪种情况下，由于细胞不能摄取 LDL，胆固醇便积累在血液中并使人易患动脉粥样硬化。除非通过吃药（他汀类药物）降低血液中的胆固醇，否则他们将可能在年纪很轻时便死于胆固醇堵塞冠状动脉引起的心脏病发作。

受体介导的胞吞作用也用于摄取其他必不可少的代谢物，如维生素 B_{12} 和铁，因为细胞不能通过在第 12 章讨论过的那种膜转运过程来摄取这些物质。例如，维生素 B_{12} 和铁都是合成血红蛋白所必需的，血红蛋白是红细胞的主要蛋白质；它们与蛋白质形成复合物进入未成熟的红细胞。许多与细胞外信号分子结合的细胞表面受体也以这种途径被摄入：其中一些再循环到质膜重新利用，而其余则在溶酶体内被降解。不幸的是，受体介导的胞吞作用也能被病毒所利用：流感病毒和引起艾滋病的 HIV 都通过此途径进入细胞。

15.5.4 胞吞的大分子在内体中被分选

由于胞饮摄入的细胞外物质很快转运到**内体**中，因此通过把活细胞温育在含有电子致密标记物的液体中，就可以在电子显微镜下通过观察电子致密标记物而看到内体区室。当通过这种方法观察时，内体区室呈现一组复杂的相互联系的膜管和比较大的囊泡。在这类加标记物实验中，可以明显区分出两类内体：标记物分子首先出现在质膜下的早期内体中；5～15 min 后，它们出现在近核的晚期内体中（图 15-18）。早期内体相互融合或者与已经存在的晚期内体融合，逐

步成熟成为晚期内体(视频 15.11)。内体膜中有一类由 ATP 驱动的 H^+(质子)泵把 H^+ 从胞质溶胶泵送入内体腔,使得内体区室内部保持酸性(pH 5~6)。

内体区室在向内的胞吞途径中起着主要分选站的作用,就像反式高尔基体网络在向外的分泌途径中所行使的功能一样。内体中的酸性环境通过使许多受体释放它们结合的货物,从而在分选过程中起到关键作用。受体复合物一旦进入内体,它们采取的路线会因受体类型不同而不同:①大多数受体回到它们原来的同一质膜区域,前面讨论的 LDL 受体就属于这一类;②有一些受体转运到溶酶体,并在那里被降解;③有一些受体转而到达质膜的另外区域,因而把它们结合的货物分子从胞外空间穿越整个细胞转移到另一胞外空间,这一过程称作*转胞吞作用*(图 15-34)。

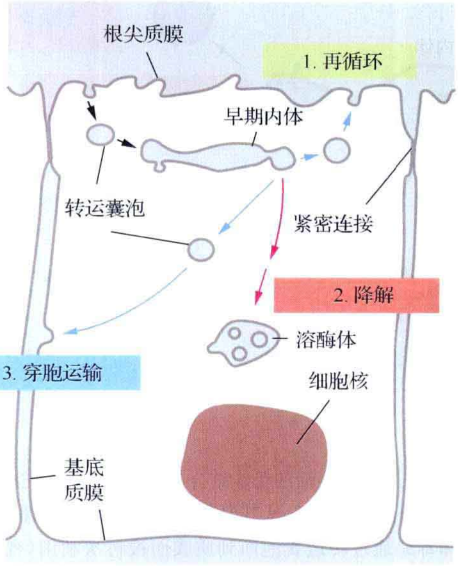


图 15-34 参与内吞的受体蛋白的命运取决于受体的类型。图示从上皮细胞内体区室出发的三条途径。那些不是与一些从早期内体回收的受体遵循从内体区室到溶酶体的途径,并在溶酶体被降解。被回收的受体或者回到它们来源的同一质膜区域(*再循环*)或到达另外的质膜区域(*转胞吞作用*)。如果与受体一起经胞吞进入的配体在内体的酸性环境中仍然结合在受体上,则它将走和受体一样的途径;否则它将被运送到溶酶体而被降解。

仍然结合在受体上的货物分子有着与其受体一样的命运。那些在内体中与其受体分离的货物分子注定要和大多数内体腔内含物一起在溶酶体内被分解。晚期内体含有一些溶酶体的酶,所以对货物蛋白质和其他大分子的消化从内体就开始了,并在内体逐渐成熟成为溶酶体的过程中持续进行。

15.5.5 溶酶体是细胞内消化的主要场所

被细胞消化的许多细胞外颗粒和分子最终到达**溶酶体**,溶酶体是含有水解酶的膜囊,它进行着对细胞外物质和废旧细胞器的有控制的细胞内消化。溶酶体中含有约 40 种类型的水解酶,包括那些降解蛋白质、核酸、寡糖和磷脂的酶。所有这些酶都在溶酶体内保持的酸性环境(pH 大约为 5)中呈现最佳活性。在正常情况下,溶酶体膜把这些有破坏性的酶与胞质溶胶(其 pH 约为 7.2)隔开,但这些酶对酸性的依赖使得即使有一点儿酶泄漏出来时也能保护胞质溶胶中的内含物不被损害。

像所有其他胞内细胞器一样,溶酶体不仅含有一套独特的酶,也有一层独特的包膜。溶酶体膜中含有转运蛋白,能将氨基酸、糖和核酸等大分子消化后的最终产物运送到胞质溶胶中去,它们能从那里被排出或被细胞利用。像内体膜中的 ATP 酶一样,溶酶体膜上也有 ATP 驱动的 H^+ 泵,它把 H^+ 泵入溶酶体,因此维持了其内部保持酸性 pH(图 15-35)。大多数溶酶体膜蛋白通常都是高度糖化的;这些糖大多覆盖在面对溶酶体腔的蛋白质上,保护这些蛋白质不被溶酶体内的蛋白酶所消化。

溶酶体的特殊的消化酶和膜蛋白都在内质网内合成，经高尔基体转运至反式高尔基体网络。当这些酶在内质网和顺式高尔基体网络中时，它们带上了特殊的磷酰化糖基（甘露糖-6-磷酸），所以当它们到达反式高尔基体网络时，能被适当的受体如甘露糖-6-磷酸受体所识别。这种标记使得这些酶被分选和包装到转运囊泡中，这些转运囊泡芽生并通过晚期内体把内含物转给溶酶体（图 15-18）。

根据其来源不同，物质沿着不同的途径到达溶酶体。我们已经知道细胞外颗粒被摄入吞噬体后再与溶酶体融合，而细胞外的液体和大分子则被摄入到较小的胞吞囊泡，通过内体将其内含物转至溶酶体中。然而，细胞还有另外一条向溶酶体提供物质的通路，称为自体吞噬，这条通道用来降解细胞本身废弃的部分物质。例如，在肝细胞的电镜照片上，人们经常看见溶酶体消化线粒体以及其他细胞器。这一过程从双层膜包围细胞器开始，形成一个自体吞噬体，然后与溶酶体融合（图 15-36）。到目前为止还不知道是什么标记了那些要被降解的细胞器。

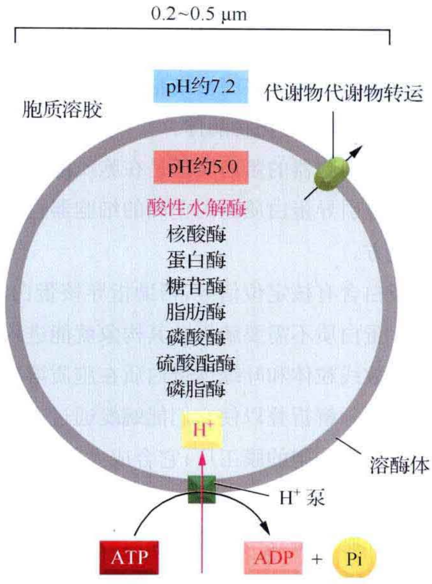


图 15-35 溶酶体含有水解酶和 H^+ 泵。酸性水解酶是在酸性环境中有活性的水解酶。膜中的 H^+ ATP 酶将 H^+ 泵入溶酶体腔内，从而使溶酶体腔维持酸性环境。

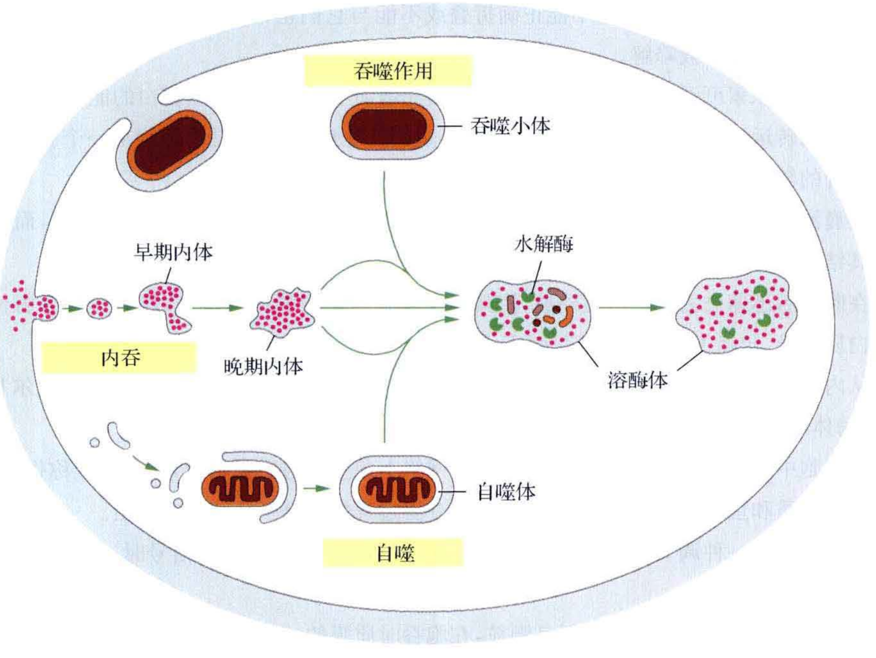


图 15-36 预定要降解的物质通过不同的途径进入溶酶体。每一条途径导致不同来源的物质的细胞内消化。这些细胞器能够与溶酶体（或晚期内体）融合，溶酶体中含有水解酶能消化细胞器的内含物。不过，它们与“经典的”溶酶体的差别仅在于其消化的物质不同。

基本概念

- 真核细胞含有许多膜被细胞器，包括细胞核、内质网（ER）、高尔基体、溶酶体、内体、线粒体、叶绿体（在植物细胞中）和过氧化物酶体。
- 大多数细胞器的蛋白质都是在胞质溶胶中合成，然后转运到它们行使功能的细胞器中。氨基酸序列中的分选信号引导蛋白质运向正确的细胞器；在胞质溶胶中行使功能的蛋白质没有这种信号，它们继续留在合成的地方。
- 核蛋白含有核定位信号，帮助指导核蛋白从胞质溶胶通过主动转运经贯通两层核被膜的核孔到达细胞核内。蛋白质不需要解折叠其构象就能进入核内。
- 大多数线粒体和叶绿体蛋白质在胞质溶胶中合成，并通过其膜上的蛋白转运体被主动转运到细胞器中。蛋白质必须解折叠以使它们能蜿蜒通过在线粒体或叶绿体膜上的蛋白转运体。
- 内质网是细胞的膜工厂；它合成大部分的细胞脂质以及许多蛋白质。蛋白质由结合在粗面内质网表面的核糖体合成。
- 如果在胞质溶胶中的核糖体所合成的蛋白质具有内质网信号序列，它会被位于胞质溶胶内的信号识别颗粒（SRP）所识别，从而将核糖体引向内质网；核糖体-SRP 复合物与内质网膜上受体的结合便启动了转运过程，使生长的多肽链通过转运通道穿过内质网膜。
- 预定分泌出去或到细胞器腔内的可溶性蛋白被完全转运入内质网腔，而预定到内质网膜或其他细胞膜的跨膜蛋白通过一个或一个以上的跨膜 α 螺旋锚定在脂双层中。
- 在内质网腔内，蛋白质折叠起来，与其他蛋白质装配，形成二硫键，并被修饰连上寡糖链。
- 离开内质网是一个重要的质控步骤；不能正确折叠或不能与它们正常的结合对象结合的蛋白质，都被伴侣蛋白留在内质网内并最终被降解。
- 错误折叠蛋白质的积累可引发扩展内质网的反应，因此增加了其正确折叠新蛋白的能力。
- 蛋白质从内质网转运到高尔基体以及从高尔基体转运到其他目的地，都是由持续从一个膜上芽生并持续与另一个膜融合的转运囊泡介导的，这个过程称作囊泡转运。
- 芽生的转运囊泡在其胞质溶胶面具有独特的外被蛋白；外被蛋白的装配驱动了出芽过程，而且外被蛋白帮助受体及其结合的货物分子进入正在形成的囊泡中。
- 有被囊泡在断离后迅速失去其蛋白质外被，使其能停靠并与特殊的靶膜融合；停靠和融合由位于囊泡和靶膜上的蛋白质介导，包括 Rab 蛋白和 SNARE 蛋白。
- 高尔基体从内质网接受新合成的蛋白质；施以寡糖修饰，分选蛋白质，并把蛋白质从反式高尔基体网络分送到质膜、溶酶体或分泌囊泡中去。
- 在所有真核细胞中，转运囊泡不断从反式高尔基体网络上芽生并与质膜融合，这个过程称作组成性胞吐；这个过程将质膜脂质和蛋白质运送往细胞表面，并在分泌过程中将分子从细胞中释出。
- 特化的分泌细胞也有一种调节性胞吐途径，在这一途径中，当细胞得到分泌信号时，储藏在分泌囊泡中的分子通过胞吐从细胞中释出。
- 细胞通过胞吞摄入液体、分子，有时甚至是颗粒，在胞吞时质膜的一些区域内陷并断离，形成胞吞囊泡。
- 胞吞的大部分物质被运送到内体，然后再到溶酶体，在那里被水解酶所降解；然而，胞吞囊泡膜的大部分组分通过转运囊泡再循环回到质膜被重新利用。

关键词

胞吐	分泌囊泡	囊泡转运	受体介导的胞吞作用	信号序列
胞吞	高尔基体	内体	吞噬	有被囊泡
胞饮	过氧化物酶	内质网(ER)	吞噬细胞	转运囊泡
胞质溶胶	核被膜	Rab 蛋白	网格蛋白	
粗面内质网	核孔	溶酶体	未折叠蛋白质反应(UPR)	
分泌	膜被细胞器	SNARE		

问题

问题 15-1 如图 15-3 的图解所示，内层核被膜和外层核被膜的脂双层形成连续的一个薄层，在核孔周围结合。由于膜是两维流体，这就暗示膜蛋白可以自由地在内外两层核被膜之间扩散。然而这两层核被膜有着不同的蛋白质组成，反映出它们的功能不同。你怎么能解释这个明显的矛盾？

问题 15-2 为什么真核细胞需要一个细胞核作为独立的区室，而原核细胞没有细胞核也能生活得很好？

问题 15-3 解释为什么在每轮翻译结束后，mRNA 分子仍然能结合在内质网膜，而用于翻译 mRNA 的单个核糖体却被释放并重新加入核糖体的胞质溶胶库中。

问题 15-4 A. 有一个蛋白质，其中含有一个不被切除的内部信号序列（图 15-17 中红色的起始转移序列），但是不含有任何终止转移肽，请预测这个蛋白质的膜取向。

B. 类似地，有一个蛋白质，其中含有一个可切除的 N 端信号序列，其后接着一个终止转移序列和一个起始转移序列，请预测这个蛋白质的膜取向。

C. 怎样安排信号序列才能使一个多次跨膜蛋白以奇数个跨膜片段插入膜中。

问题 15-5 在制备质膜时加入衔接蛋白、网格蛋白和动力蛋白 GTP，可以看到网格蛋白的包被囊泡从真核细胞质膜的片段上芽生出来。如果你在其中不加(A)衔接蛋白，(B)网格蛋白或(C)动力蛋白，你将会观察到什么情况？(D)如果质膜片段来自原核细胞，你又会看到什么？

问题 15-6 在内质网的蛋白质上加上一个预先装配好的 14 个糖残基，而不是用不同的酶按顺序把糖加上去，在蛋白质的表面上逐步地建起糖链。这种做法为什么是有利的？

问题 15-7 如果内质网腔中的离子条件改变到与反式高尔基体网络腔中的条件相似，你预期通过调节性分泌途径分泌大量蛋白质的细胞内会发生什么情况？

问题 15-8 铁(Fe)是一种对所有细胞来说都必不可少的痕量金属。例如，血红素基团合成中就需要铁，血红素基团是参与电子传递反应的许多酶的活性部位的一部分；红细胞中的主要蛋白质——血红蛋白也需要铁。铁是通过受体介导的胞吞作用被细胞摄取的。摄入铁的系统有两个组分：一个是在血流中循环的可溶性蛋白称作转铁蛋白；另一个是转铁蛋白受体，像图 15-33 所示的 LDL 受体那样，它是一种处于不断被内吞并再回到质膜的循环中的跨膜蛋白。铁离子在中性 pH 时结合在转铁蛋白上，而在酸性 pH 时不结合。转铁蛋白在中性 pH 时只在与 Fe 离子结合情况下才与转铁蛋白受体结合，但在酸性 pH 时，即使没有结合 Fe 离子也能与其受体结合。根据这些性质，请说明铁是怎样摄入的，并讨论这一精细安排的优势。

问题 15-9 下列哪些提法是正确的？并解释你的答案。

A. 核糖体是细胞质结构，在蛋白质合成时由一条 mRNA 分子连接而形成多核糖体。

B. 氨基酸序列 Leu—His—Arg—Leu—Asp—Ala—Gln—Ser—Lys—Leu—Ser—Ser 是一个指引蛋白质到内质网中去的信号序列。

C. 细胞内所有的转运囊泡都必须在其膜上有 v-SNARE 蛋白。

D. 转运囊泡将蛋白质和脂质运到细胞表面。

E. 如果预定到溶酶体去的蛋白质从反式高尔基体网络到晚期内体的运送途径受阻，则溶酶体蛋白将通过如图 15-27 所示的组成性分泌途径分泌。

F. 溶酶体只消化那些被细胞由胞吞所摄入的物质。

G. N-连接的糖链见于面向细胞表面的糖蛋白以及面向内质网腔、反式高尔基体网络腔和线粒体腔的糖蛋白。

问题 15-10 一些蛋白质在核与胞质间穿梭。它们需要一个核输出信号以穿出核外。你如何设想具有核输出信号的蛋白质进入核内？

问题 15-11 流感病毒包着一层膜，膜上含有能被酸性 pH 活化的融合蛋白。活化以后，此蛋白质引起病毒膜与细胞膜融合。有一种古老的民间治疗流感的方法，建议患者到马棚内过一夜。听起来可能很怪，但是这项建议有一个合理的解释。马棚中的空气含有马尿中的细菌产生的氨气（NH_3）。请画图表示流感病毒进入细胞的（具体）途径，并推测 NH_3 如何能保护细胞免受病毒感染。（提示：NH_3 能通过 $NH_3 + H^+ \longrightarrow NH_4^+$ 反应来中和酸性溶液。）

问题 15-12 请思考引导转运囊泡从反式高尔基体网络到质膜的 v-SNARE。像其他 v-SNARE 一样，它们是一类在生物合成过程中整合到内质网膜中的膜蛋白，并由转运囊泡运到其目的地。因此，从内质网芽生的转运囊泡至少包含两类 v-SNARE：一类以到顺式高尔基扁平囊的囊泡为目的地，另一类穿过反式高尔基体网络并被包装进不同的转运囊泡其目的地为质膜。（A）为什么这可能会成问题？（B）请提出细胞解决问题的可能方法。

问题 15-13 有一种特殊类型的果蝇突变体在温度升高时会瘫痪。突变影响动力蛋白的结构，使其在高温下失活。实际上，通过分析这些突变体果蝇的缺陷，发现了动力蛋白的功能。在升温时完全瘫痪提示神经和肌细胞间的突触转递（在第 12 章讨论）受阻。解释为什么突触处的信号传递需要动力蛋白。在你的假设的基础上，你预期在电镜下观察暴露在高温中的这种果蝇的突触会看到什么？

问题 15-14 如果需要，修改下列陈述以校正它们：“由于核定位序列在蛋白质进入核内后并不被蛋白酶所切除，在有丝分裂后在胞质溶胶蛋白和核蛋白混合时，它们可以再被用于输入核蛋白。这与内质网信号序列正好相反，一旦蛋白质进入内质网腔后内质网信号序列即被一种信号肽酶切除。所以在有丝分裂后胞质溶胶蛋白和内质网蛋白混合时，内质网信号序列不能再被用于输入内质网蛋白；这些内质网蛋白因而必须被降解并重新合成。”

问题 15-15 请思考有这样一种蛋白质，其氨基端含有一个内质网信号序列，其中部含有一个核定位序列。你认为这种蛋白质的命运会如何？请解释你的答案。

问题 15-16 请比较和对照输入内质网的和输入细胞核内的蛋白质。至少列出两个机制上的主要区别，并推测为什么输入内质网的机制不能用于输入细胞核，反之亦然？

问题 15-17 在有丝分裂过程中，核被膜崩解，核内蛋白完全与胞质溶胶蛋白混合。这与图 15-3 所提出的进化图示一致吗？

问题 15-18 肝细胞正常分泌一种抑制某些蛋白水解酶的蛋白质到血流中去。这种抑制性蛋白质（抗胰蛋白酶），由于突变使得一个氨基酸发生改变，导致在患者血液中缺失这种酶。抗胰蛋白酶缺陷由于蛋白酶活性失控而引起种种严重问题，特别在肺组织中。令人惊奇的是，在实验室内合成的这种突变体蛋白却像正常的抗胰酶蛋白一样有抑制蛋白酶的活性。那么为什么该突变会引发疾病？请想出一种以上的可能性，并提出你区别它们的方法。

问题 15-19 Outonalimb 博士因发现遗忘蛋白（forgettin）而成名。这种蛋白质主要在青少年的松果腺内合成，当听觉系统接受到像“请把垃圾拿出去”那样的句子时，这个蛋白质能引起选择性的短期反应迟钝和记忆缺失。她假定遗忘蛋白的羧基端具有一疏水内质网信号序列，能被 SRP 识别，使其能以图 15-13 所示的机制转运穿过内质网膜。她预测此蛋白质由松果腺细胞分泌到血液，由此发挥其破坏性的系统效应。如果你是基金委员会的成员，在决定她是否能得到资助用以验证她的假定时，你将赞成还是反对？请记住基金会评论应是有礼貌的和建设性的。

问题 15-20 把图 15-3 的进化图式再发挥一下，提出高尔基体是如何进化而成的。请以简单的草图来说明你的意见。为使高尔基体发挥有效功能，还有些什么也必须进化？

问题 15-21 如果说膜蛋白是通过内质网蛋白转移通道（它本身就是一种膜蛋白）整合到内质网膜中去的话，那么第一个蛋白质转移通道又是怎样整合到内质网膜中去的？

问题 15-22 图 Q15-22 是图 15-18A 第三列上电镜照片的示意图。请为图上的字母注上结构名称。

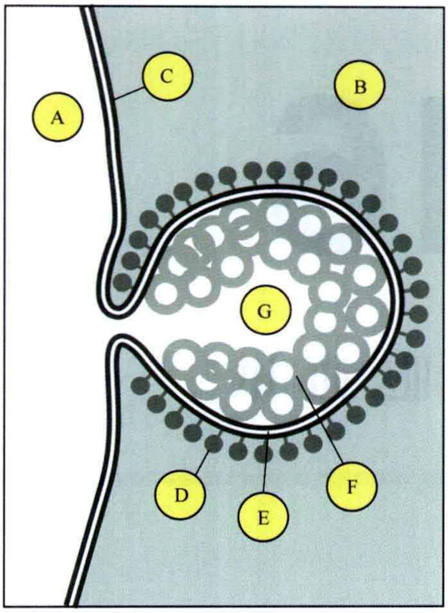
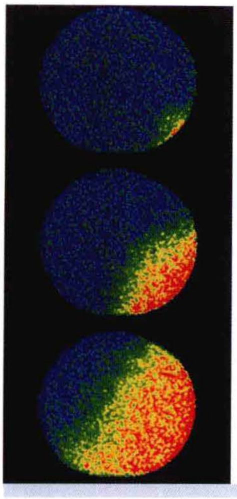


图 Q15-22

（胡锐颖 冯晓艳 译）



16

细 胞 通 讯

16.1 细胞信号传导的一般原理
16.2 G蛋白偶联受体
16.3 酶联受体

单个细胞和多细胞生物一样，需要对它们的外界环境具有感觉和反应。一个独立生活的细胞，即使是一个低级的细菌，都必须具备发现外界养料的本领，感觉光亮和黑暗的差别以及鉴别和避免毒物及天敌的能力。如果这个细胞将要过"群体生活"的话，那么它必须和其他细胞进行通讯。例如，一个酵母细胞行将接合时，它会分泌一种叫作交配因子的小分子蛋白。其他异"性"酵母检测到交配因子的存在，就通过停止细胞周期来对这些交配因子产生反应，同时朝释放信号的细胞移动(图 16-1)。

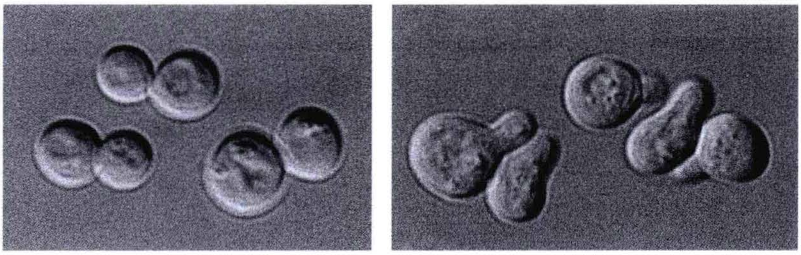


图 16-1 响应交配因子的酵母细胞。芽殖酵母细胞通常是球形的(A)，当接触到邻近酵母细胞产生的合适交配因子时，它们就朝因子的源头伸出一个突起(B)。对交配信号起反应而采取这种形状的细胞被称为"shmoos"，取自 20 世纪 40 年代 AI Capp 的卡通角色(蒙 Michael Snyder 惠许)

在多细胞生物中，情况更加复杂。细胞们必须破译他们接受到的大量的来自其他细胞的信号，从而协调自己的行为。例如，在动物发育期间，胚胎细胞交换着各种信号，以确定每个细胞应承担哪些特殊任务，它应该占据动物的什么部位，明确它是应存活、分裂还是死亡。随后的生命中，大量各式各样的信号协调着动物的生长和日常的生理与行为。同样，在植物中细胞间也存在着不停的交流。这种细胞间的相互作用允许一株植物去感受光亮、黑暗和温度的情况，从而指导植物个体的生长周期、开花与结果；同时也让这株植物协调自己的根、茎和叶中发生的事件。

在本章中，我们要考察动物细胞的一些最重要的通讯方式，并讨论细胞如何译解收到的信号。尽管将集中讨论在动物细胞中的接收和释译机制，我们仍然会展示一个关于已知的在植物中的细胞信号传导的简单回顾。我们将以概述细胞信号传导的一般原理开始，随后着重讨论动物细胞在接收和译解信号中所采用的两个主要系统。

16.1 细胞信号传导的一般原理

信息有着很多不同的形式，而交流则会频繁的将携带信息的信号从一种形式转变成另一种。举例来说，当你通过移动电话接听来自你朋友的电话的时候，电话把在空气中传播的无线电信号转变成你能听到的声波。这种信息的转换过程叫作**信号转导**(图 16-2)。

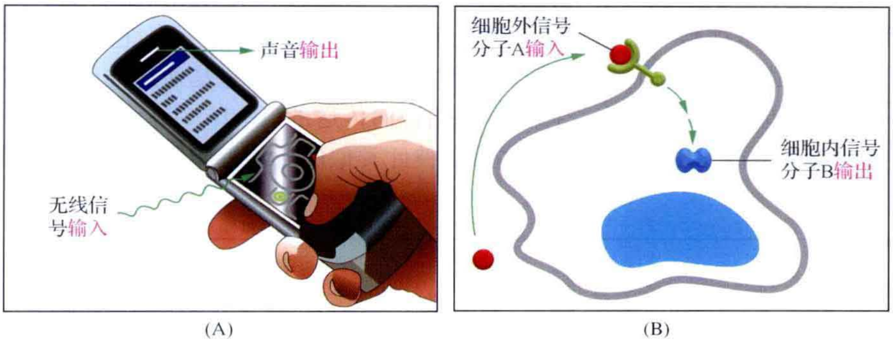


图 16-2 信号转导是将一种类型的信号转变成另一种类型的过程。(A) 移动电话在接受的时候将无线电信号转换成为声信号(传送时反之亦然)；(B) 一个靶细胞将胞外信号(分子 A)转变成胞内信号(分子 B)。

在活体细胞之间传送的信号比人类日常交换的信息简单得多。在一个典型的细胞交流中，由发信号细胞产生一种特殊类型的信号分子，并被靶细胞检测出。如同人类对话一样，绝大多数的动物细胞既发送也接受信号，因此它们同时是发信号细胞又是靶细胞。靶细胞具有受体蛋白，可以特异的识别和响应信号分子。细胞信号转导开始于靶细胞上的受体蛋白接受进来的细胞外信号，并将其转换为指导细胞行为的细胞内信号。本章大部分介绍的是信号的接收和转导——即细胞生物学家谈论的**细胞信号传导**。首先，我们简要地介绍一下细胞间相互传送的各种信号类型。

16.1.1 信号能经过长程或短程而起作用

多细胞生物内的细胞利用数以百计的细胞外分子相互传送信号。这些信号分子有蛋白质、肽、氨基酸、核苷酸、类固醇、脂肪酸衍生物，甚至还有可溶性气体——尽管信号分子种类繁多，但细胞只依赖为数不多的几种基本通讯方式来传递信息。

在多细胞生物中，最为普遍的通讯方式是通过分泌信号分子至动物的血液或植物的汁液中，以此把信号传播到机体的各部位。在动物中，以这种方式发挥作用的信号分子叫作**激素**。产生激素的细胞称作内分泌细胞(图 16-3A)。例如，胰脏的一部分就是一个内分泌腺体。它所产生的激素是胰岛素，可以调控整个身体的葡萄糖摄取。

被称为旁分泌信号传导的这个过程则不太普遍。在此过程中信号分子并不是进入血液，而是通过细胞外介质作局域性的扩散，并逗留在分泌这些信号分子的细胞的附近；它们起**局部介质**的作用(图 16-3B)。调节感染部位炎症反应或调节伤口愈合过程中细胞增殖的许多信号分子就以这种方式行使其功能。在一些情况下，细胞所响应的局部介质正是它们自己所分泌的，

这种形式的旁分泌交流即自分泌信号传导。肿瘤细胞有些时候就是通过这种方式促进自己的存活和增殖。

第三种通讯类型是神经元信号传导。和激素信号一样，神经细胞（神经元）的信息传递常常是长距离的。但在神经信号传导中，信息不是广泛传播的，而是通过专用的路线迅速而特异地把信号传送到靶细胞（图 16-3C）。正如在第 12 章所讨论的，神经元的轴突可以终止于远离神经细胞体的靶细胞特殊连接处（突触）。比如，从脊髓伸展到大脚趾的轴突可以超过 1 m。当被来自环境或来自其他神经细胞的信号激活时，神经元以 100 m/s 的速度把电脉冲沿着轴突传送出去。信号到达轴突的终端时，细胞内电信号就转变为一种细胞外的化学形式：每一个电脉冲刺激神经元终端分泌一个称为**神经递质**的胞外信号分子。神经递质然后扩散通过狭窄的（<100 nm）轴突末端膜和靶细胞膜之间的间隙，以不到 1 ms 的时间到达靶细胞的受体。

第四种通讯方式是细胞与细胞间通讯中最基本的、距离最短的一种，它不需要释放分泌信号分子，而是通过细胞质膜上信号分子的直接接触来介导的。信息是通过锚着于发信号细胞质膜上的信号分子与包埋在靶细胞上受体分子的结合而传送的（图 16-3D）。例如，在胚胎的发育过程中，这种接触依赖性信号传导促使那些最初彼此类似的毗邻细胞必须特异的形成不同类型的细胞（图 16-4）。

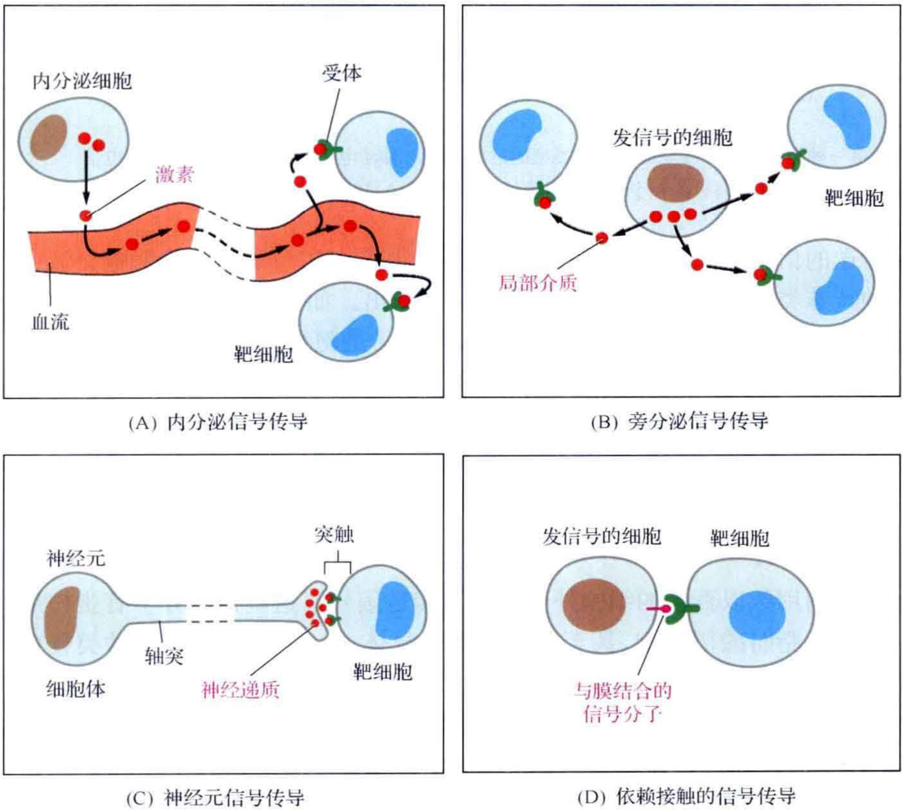


图 16-3 动物细胞用不同的方式彼此间传递信号。（A）内分泌腺产生的激素分泌到血液，能广泛地分布到生物体全身；（B）旁分泌信号由细胞释放至它们附近的胞外介质中并起局部作用；（C）神经元信号沿轴突传至远距离的靶细胞；（D）接触依赖的信号，一个细胞表面结合信号与邻近细胞膜上的受体结合。许多相同类型的信号分子用于内分泌、旁分泌和神经元的信号传递。其重要差别在于向靶细胞传送信号时所用的速度和选择性。

为了更好地理解这几种不同的信号传导方式，可以想象一下，为了给某场演讲、音乐会或者足球比赛做宣传的时候。内分泌信号将会倾向于通过无线电台来广播这个消息。局部旁分泌信号则等同于在所选的布告栏上贴传单。长距离而自身的神经信号就如同一个电话或是一封电子邮件，那么接触依赖性信号传导就是一个典型的老式的面对面交流。至于自分泌信号传导，就好像你给自己留了一个勿忘出席的便笺。

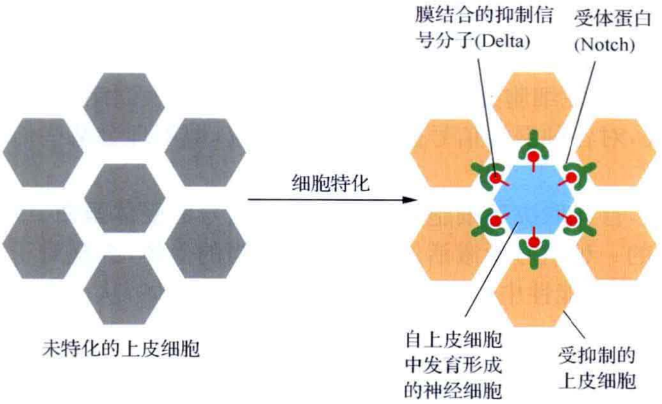


图 16-4　在果蝇中控制神经细胞产生的接触依赖性信号传递。果蝇神经系统起源于胚胎的一片上皮细胞。在这片上皮细胞内受到隔离的细胞开始特化为神经细胞，而它们的相邻细胞则仍是非神经细胞并保持上皮样结构。控制这个进程的信号是由直接的细胞间接触来传递：每一个未来的神经细胞传送一个抑制信号给它相邻的细胞，防止它们也特化为神经细胞。信号分子(本例中的 Delta)和受体分子(称为 Notch)这两者都是跨膜蛋白。在脊椎动物和无脊椎动物的各种其他组织中，相同的机制均由这种基本相同的分子介导，控制细胞分化类型的细节。在果蝇中这种分化机制失效的突变体中，某些细胞类型(如神经元)以其他分化类型的细胞为代价，大量生产而过剩。

表 16-1 列举了某些激素、局部介质、神经递质和接触依赖的信号分子。部分这些分子的作用将在本章后面较详细地讨论。

表 16-1　信号分子的一些例子

信号分子	起源部位	化学本质	部分作用
激素			
肾上腺素	肾上腺	酪氨酸衍生物	增加血压、提高心率以及增强新陈代谢
皮质醇	肾上腺	类固醇(胆固醇衍生物)	影响大部分组织中的蛋白质、糖类和脂类的新陈代谢
雌二醇	卵巢	类固醇(胆固醇衍生物)	诱发并维持女性第二性征
胰高血糖素	胰腺中的 α 细胞	肽	刺激肝脏细胞和脂肪细胞中葡萄糖的形成还有糖原或脂类的降解
胰岛素	胰腺中的 β 细胞	蛋白质	刺激肝脏细胞中葡萄糖的吸收还有蛋白质和脂类的合成
睾酮	睾丸	类固醇(胆固醇衍生物)	诱发并维持男性第二性征
甲状腺素	甲状腺	酪氨酸衍生物	刺激许多类型细胞新陈代谢
局部介质			
表皮生长因子(EGF)	各种细胞	蛋白质	刺激表皮和许多其他类型细胞的增殖
血小板衍化生长因子(PDGF)	各种细胞，包括血小板	蛋白质	刺激许多类型的细胞的增殖
神经生长因子(NGF)	各种神经支配组织	蛋白质	促进某些种类的神经元存活和它们轴突的生长
转化生长因子 β(TGF-β)	许多细胞类型	蛋白质	抑制细胞增殖；刺激胞外基质的生成
组胺	肥大细胞	组氨酸衍生物	导致血管扩张渗漏，有助于引起炎症反应
一氧化氮(NO)	神经细胞；血管内皮细胞	可溶性气体	导致平滑肌细胞松弛；调节神经细胞活性
神经递质			
乙酰胆碱	神经末梢	胆碱衍生物	在许多神经肌肉突触间以及中枢神经系统中作为兴奋性神经递质
γ-氨基丁酸(GABA)	神经末梢	谷氨酸衍生物	在中枢神经系统中作为抑制性神经递质
接触依赖性信号分子			
Delta	预神经细胞；各种其他正在发育的细胞	跨膜蛋白质	抑制毗邻细胞以与发信号细胞的相同方式变成特化细胞

16.1.2 每个细胞根据其自身来源和现状应答有限的一组信号

在多细胞机体内，一个典型的细胞会接触到它所处环境中的数以百计的信号分子。这些分子可以是在细胞外液体中游离的，或者是附着在细胞外基质中，或与相邻细胞的表面结合着。每一个细胞必须根据自己特定功能的需要，对各种混合信号做出选择性反应，即不理会某些信号而只对其中的一些信号起反应。

一个细胞是否对一个信号分子起反应，首先取决于细胞是否具有那个信号的**受体蛋白**，或称为**受体**。通常，每一种受体只能被唯一的一种信号所激活。如果没有适当的受体，细胞对于信号就如同失聪般无法响应。在数以千计的可能性中，一个细胞仅产生有限的受体，从而限制能够影响它的细胞信号范围。

当然，一小部分胞外信号分子可以通过多种方式来改变靶细胞的行为。它们可以同时或单一的改变细胞的形状、移动、代谢、基因表达等。正如我们了解到的，来自细胞表面受体的信号通常是通过一组胞内信号分子而传送进细胞内部的，然后作用在序列上并最终改变了效应蛋白的活性，从而影响到细胞的行为。这种细胞内传递系统和细胞内靶分子的作用会因细胞类型的不同而有很大差异。所以，不同细胞对同一信号的反应就有它们不同的方式。例如，一个心肌细胞接触神经递质乙酰胆碱时，心肌细胞的收缩频率就会降低。而当唾液腺接触到相同信号时，它则分泌唾液成分，尽管这两种细胞表面的受体都是一样的(图 16-5)。因此，单独的胞外信号分子并不是信息:用信号来传达信息是依赖于靶细胞如何接受和翻译该信号的。

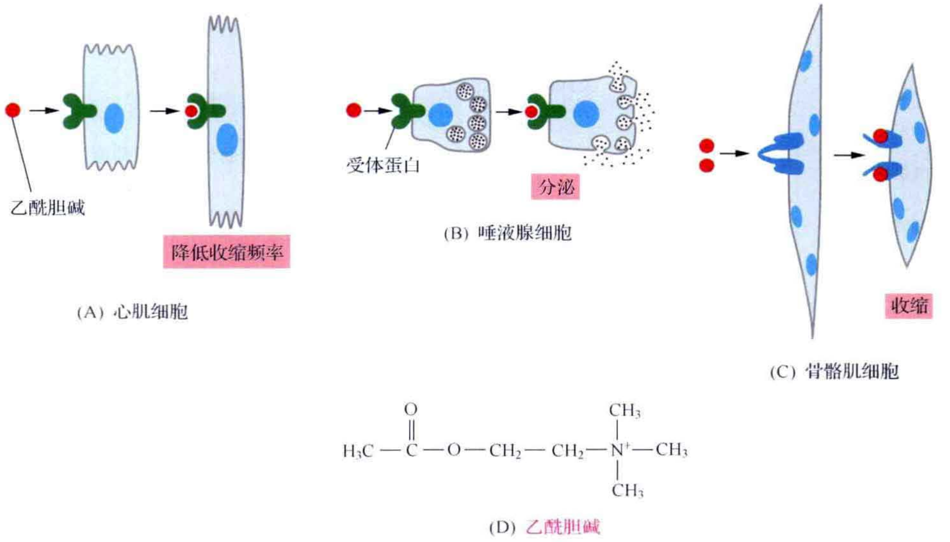


图 16-5 相同信号分子能诱导不同靶细胞的不同反应。不同的细胞类型特化成以不同方式对神经递质乙酰胆碱起反应。在心肌细胞(A)和唾液腺细胞(B)中，信号分子结合类似的受体蛋白，但在两者中激起不同反应。在骨骼肌细胞(C)中，细胞对该信号产生不同类型的受体蛋白。该受体蛋白产生的胞内信号和心肌细胞上受体类型所产生的信号不同。(D)对于乙酰胆碱这样一个多能的分子，它有着相当简单的化学结构。

一个典型的细胞拥有很多种类的受体，并且每一种都有数以千万计的拷贝。这就足以使细胞同时敏感地对许多细胞外信号产生反应；同时允许相对少量的信号分子，通过不同的组合方式，产生了对整个细胞行为的精细而复杂的控制。这些信号的组合所能激起的反应，远不同于每一个信号各自作用所激起反应的简单总和。其部分是因为不同信号的细胞内传递系统相互作用，所以一个信号的存在改变了对另一个信号的反应。一种信号的组合可能仅仅使细胞得以存活；而另外一种信号组合可使细胞以某种特殊的方式去分化；还有一种组合则可引起细胞分裂。在缺乏任何信号的情况下，大部分的动物细胞会出现编程性死亡杀死自己(图 16-6)。

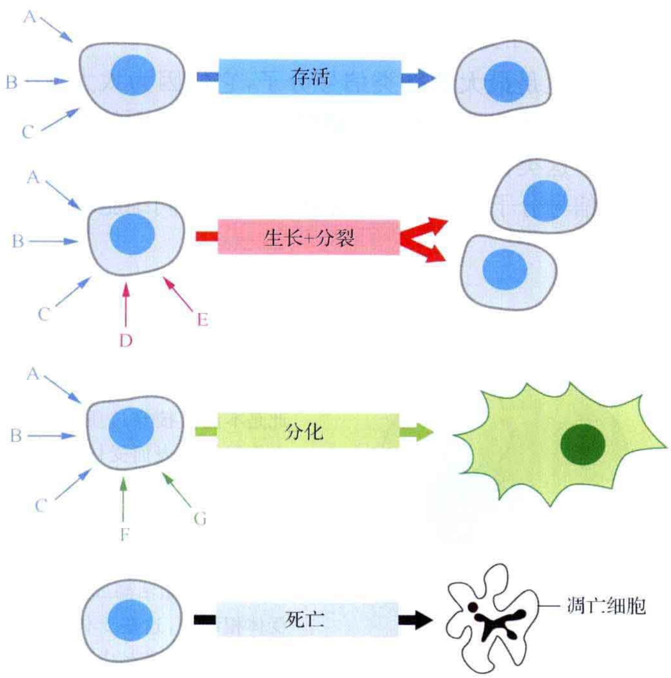


图 16-6　一个动物细胞依赖于多方面的细胞外信号。每一个细胞展现一套受体蛋白，以使它能对其他细胞产生的相应信号分子起反应。这些信号分子以组合方式起作用调节细胞的行为。如此处所示，许多细胞需要多重的信号（蓝色箭头）以求存活，另外的信号（红色箭头）为细胞分裂所需要，还有一些其他信号（绿色箭头）是分化所要求的。如果去除生存信号，大部分细胞会经历称为程序性细胞死亡或凋亡的细胞自杀方式而死亡（在第 18 章讨论）。

16.1.3　细胞对信号的响应可快可慢

细胞响应胞外信号的时间长度有很大的变化，取决于一旦接受了信息接着需要做什么。一些胞外信号动作迅速：乙酰胆碱可以在毫秒内刺激骨骼肌肉的收缩，也可以用 1 min 时间刺激唾液腺体的分泌。这种快速的响应之所以可行，是因为在这些情况中，信号所影响的蛋白质和其他分子早已经存在于靶细胞中，等待着进军的信号。

其他的响应需要多花一点时间。当被合适的信号分子所激发，细胞生长和细胞分裂会需要数小时来执行。这是因为对于这些胞外信号的响应需要在基因表达上有所改变，并产生新的蛋白质（图 16-7）。我们将在本章后面接触到更多有关有快有慢的响应以及刺激它们的信号分子的例子。

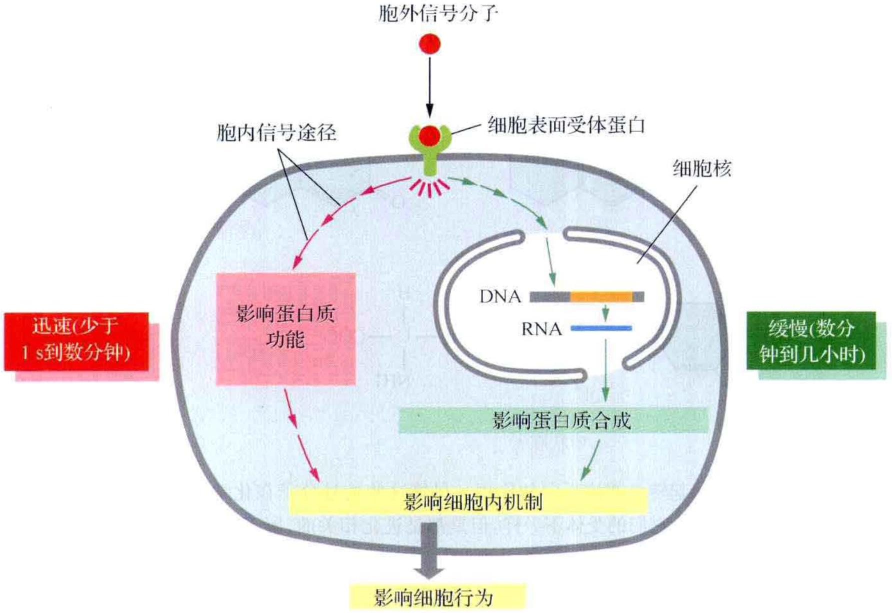


图 16-7　来自胞外信号的作用可快可慢。诸如增强细胞生长和分裂的某些类型的细胞响应涉及基因表达的改变和新蛋白的合成，因此它们相对缓慢。其他的响应，包括细胞迁移、分泌或是新陈代谢的改变，不需要基因表达上的改变，所以发生得比较迅速（图 16-5）。

16.1.4 有些激素穿越质膜并且结合到胞内受体上

细胞外信号分子一般分为两类。第一类，也是最大的一类信号分子，它们因为太大或太具亲水性而不能穿过靶细胞的质膜。因此，对于这些信号分子必须借助于靶细胞表面的受体来将信息传递过膜(图 16-8A)。第二类则小一些，这类信号所构成的分子，足够小或者足够疏水从而可以轻松扩散穿过质膜。一旦进入，这类信号分子往往激活细胞内的酶或者同细胞内受体蛋白结合从而调控基因的表达(图 16-8B)。

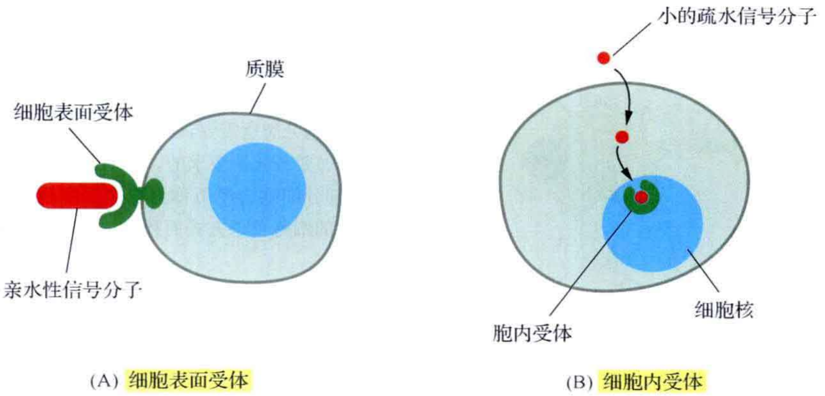


图 16-8 细胞外信号分子或和细胞表面受体结合，或和细胞内酶或是受体结合。(A) 大部分胞外的信号分子是大而亲水性的，因此是不能直接穿过质膜的，因而它们与细胞表面受体结合，进而在细胞内产生一个或更多的信号；(B) 反之，某些小的胞外疏水信号分子经扩散通过靶细胞质膜并或是直接激活酶或是和胞内的受体相结合，这些受体或位于胞质溶胶或在细胞核中(如图所示)。

一类重要的依赖细胞内受体蛋白的信号分子是**类固醇激素**(包括*皮质醇*、*雌二醇*和*睾酮*)和*甲状腺激素*(图 16-9)。所有这些疏水分子都穿行通过靶细胞的质膜，和位于胞质溶胶或细胞核的受体蛋白相结合。这些受体都是*核受体*，因为当被激素结合而激活时，它们的作用如同核内的转录调控蛋白(在第 8 章已讨论)。在一个未激活的细胞内，核受体是以典型的未激活的形势存在的。当受体和激素结合，受体蛋白经历很大的构象改变而激活蛋白，从而促进或抑制特异的靶基因的转录(图 16-10)。每一类激素结合不同的受体蛋白，每一种受体在不同的一组调节部位起作用(在第 8 章已讨论)。此外，一个给定的激素往往在不同类型的细胞内调节不同种类的基因，因此可以激活不同类型靶细胞的不同的生理效应。

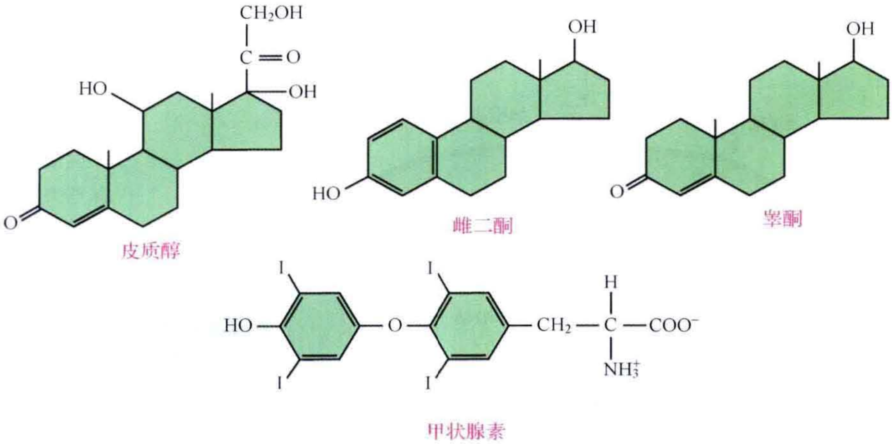


图 16-9 一些小的疏水性激素结合到胞内受体起转录调控蛋白的作用。尽管这些信号分子在化学结构和功能上不同，它们都是通过结合到胞内受体蛋白上起作用的。它们的受体不一样，但是都是进化相关的，属于转录调控蛋白的*核受体超家族*。这些激素的来源地和功能展示在表 16-1 中。

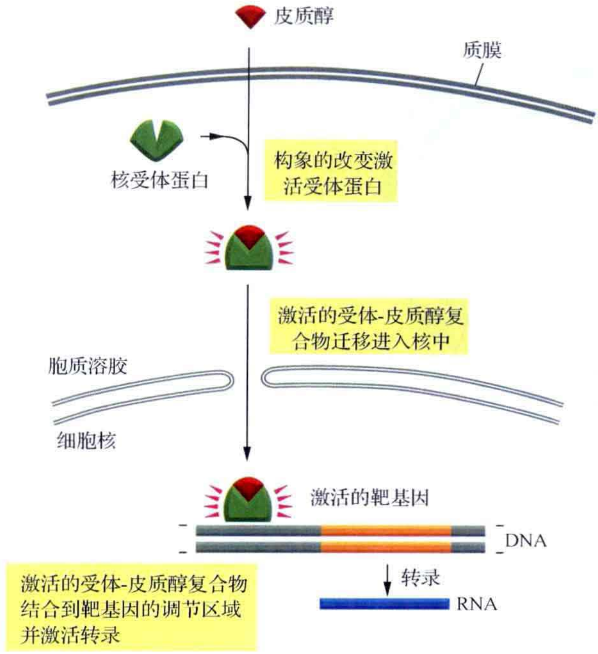


图 16-10 类固醇激素皮质醇通过激活一个转录调控蛋白而起作用。皮质醇是一种激素，由响应压力的肾上腺产生。皮质醇直接扩散通过质膜，和位于胞质溶胶内的它的受体蛋白相结合。受体和类固醇复合物接着经核孔转运至核。类固醇结合并激活受体蛋白，然后能结合到DNA的特异调节序列并激活（或是抑制，这里没有展示）特异靶基因的转录。皮质醇和某些其他类固醇激素的受体位于胞质溶胶中，而这个家族其他信号分子的激素受体甚至在没有激素的情况下早已与细胞核中的DNA结合了。

核受体和激活它们的激素在人的生理中起了关键的作用（见表16-1）。缺少了这类信号传导系统将产生严重的后果，可用人缺乏雄性激素睾酮受体所造成的后果来说明。人类的睾酮促使外部性器官的形成，同时在胎儿时影响脑部的发育，并在青春期作为男性第二性征发育的信号。有一类十分罕见的人，在遗传上是男性（他们有一个X和一个Y染色体），但由于相应基因的突变，缺乏睾酮受体，因此他们能产生激素，但细胞不能对激素起反应。这样的后果就是，他们发育成完全是女性的外表，这是一条没有雄性或雌性激素产生时性别和脑部发育所选择的道路。这种性的逆转证明了在性别发育中睾酮受体起到的关键作用，并且也表明不仅在一种细胞内介导一种效应需要这种受体，而且对于许多类型细胞产生区分男女的全部特征来说也需要这种受体。

16.1.5 一些可溶性气体穿越质膜，直接激活细胞内的酶

类固醇素激素和甲状腺激素不是仅有的可以穿越质膜的胞外信号分子。一些可溶性气体可以穿膜到达细胞内部而直接调控特异的细胞内蛋白的活性。这种直接的方式允许信号在数秒内或数分钟内改变一个细胞。**一氧化氮（NO）**就是以这种方式运作的。这种气体可以轻易地从产生它的细胞中扩散出来，进入邻近的细胞。NO产自精氨酸，在许多组织中起局部介质的作用。该气体仅在局部作用因为它会迅速通过胞外氧气和水的作用转变成硝酸盐和亚硝酸盐（5～10 s的半衰期）。

内皮细胞——衬贴在每一条血管内面的扁平细胞——在对神经末梢刺激的反应中释放NO。该NO引起血管壁平滑肌细胞松弛，血管扩张，让血液更自由地流过它（图16-11）。NO对于血管的作用是因为硝酸甘油的作用，利用硝酸甘油治疗心绞痛（疼痛是由于心肌缺血）患者的历史几乎已有百年。硝酸甘油在体内转变为NO，松弛了血管，从而减少了心脏的工作负荷，其结果是降低心肌对氧的需求。NO也被许多神经细胞用来对邻近细胞发布信号：例如，阴茎神经末梢释放的NO引起局部血管扩张，那是造成阴茎勃起的主要原因。

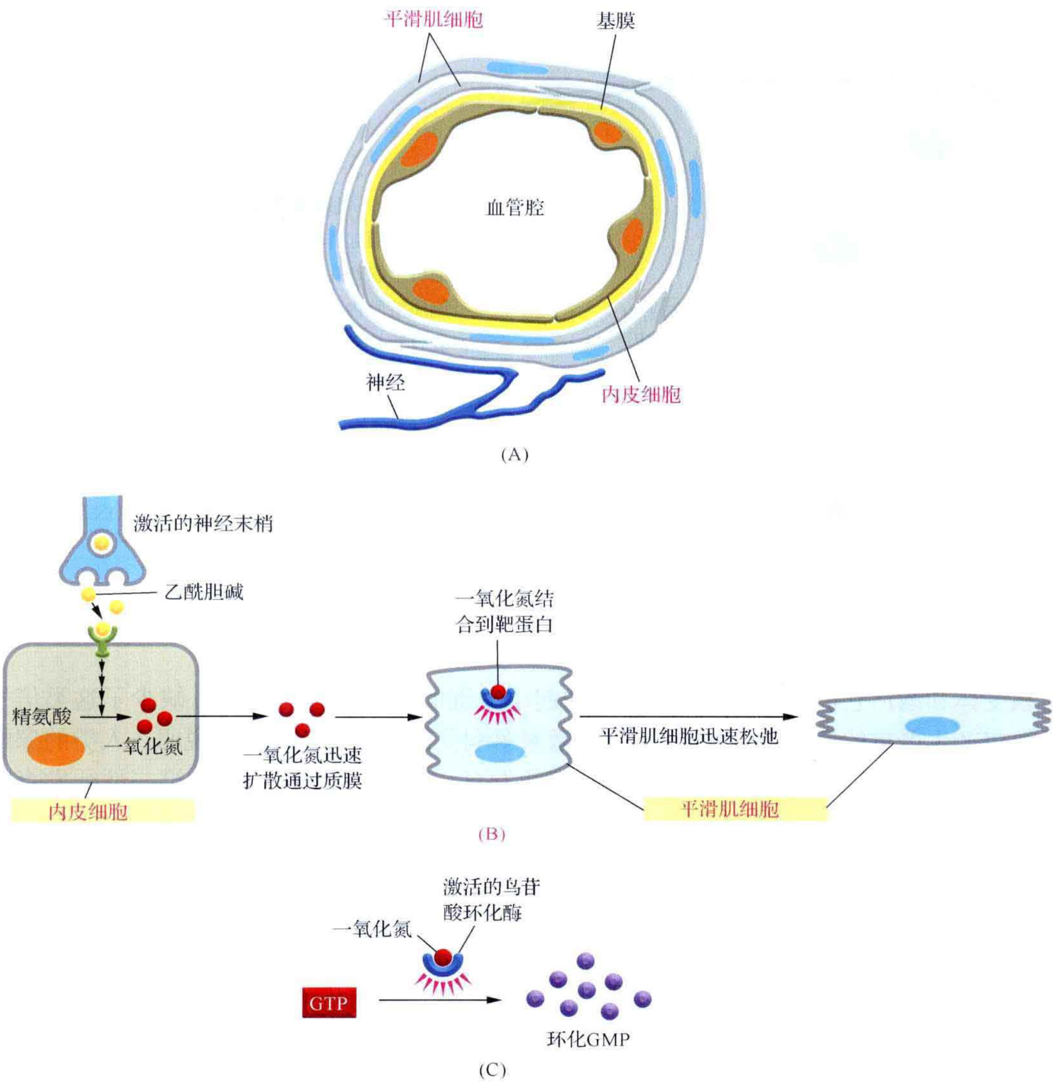


图 16-11　一氧化氮(NO)对血管平滑肌的松弛作用。(A) 此图展示了一个神经接触的血管。(B) 一系列事件导致了血管的扩张。乙酰胆碱从血管壁的神经末梢释放了出来，然后扩散穿过平滑肌细胞，通过基底膜（未显示出来）到达排列在血管上的内皮细胞表面的乙酰胆碱受体上。这里乙酰胆碱刺激上皮细胞产生和释放 NO。NO 扩散出上皮细胞，进入了邻近的平滑肌细胞从而调控特异蛋白的活性，导致肌肉细胞松弛。(C) 可以被 NO 激活的一个靶蛋白是鸟苷酸环化酶。激活的环化酶催化由 GTP 而产生 cGMP。需要注意的是 NO 气体的吸入具有高度毒性，且不要与一氧化二氮(N_2O，也称笑气)相混淆。

在许多靶细胞内，NO 结合并且激活的酶是鸟苷酸环化酶，催化核苷酸 GTP 形成环鸟苷酸(cGMP)(图 16-11C)。cGMP 本身是一个小的胞内信号分子，通过形成 NO 信号通路链的下一个连接从而激起细胞的最终反应。重要的药物伟哥通过阻断降解 cGMP 的酶从而延长 NO 信号通路，增强了阴茎的勃起。cGMP 在结构和作用机制上与 cAMP 十分类似。cAMP(cyclic AMP)是一种更普遍地被利用的细胞内信使分子，它的作用我们将在后面讨论。

16.1.6　细胞表面受体经由胞内信号传导途径传递胞外信号

与 NO、类固醇素激素和甲状腺激素不同的是，绝大多数的信号分子不是太大就是太亲水

而不能穿越靶细胞的质膜。这些蛋白、肽链和小而高度水溶的分子结合在细胞表面跨越质膜的受体蛋白上(图 16-8A)。这些跨膜受体检测出外面的信号,以一种新的形式穿越膜传递信息进入细胞内部。

受体蛋白表现出主要的信号转导步骤:它结合了胞外信号接着产生新的胞内信号作为响应(图 16-2B)。产生的胞内信号传递的过程往往如同一个分子接力赛,信息往"下游"传递,从一个**细胞内信号分子**传送到另一个,每一个信号分子都激起或产生信号转导途径中的下一个信号分子,直至代谢酶的激活、细胞骨架扭曲产生了新变化,或是基因表达的启动或关闭。这最终结果被叫作细胞的**响应**(图 16-12)。

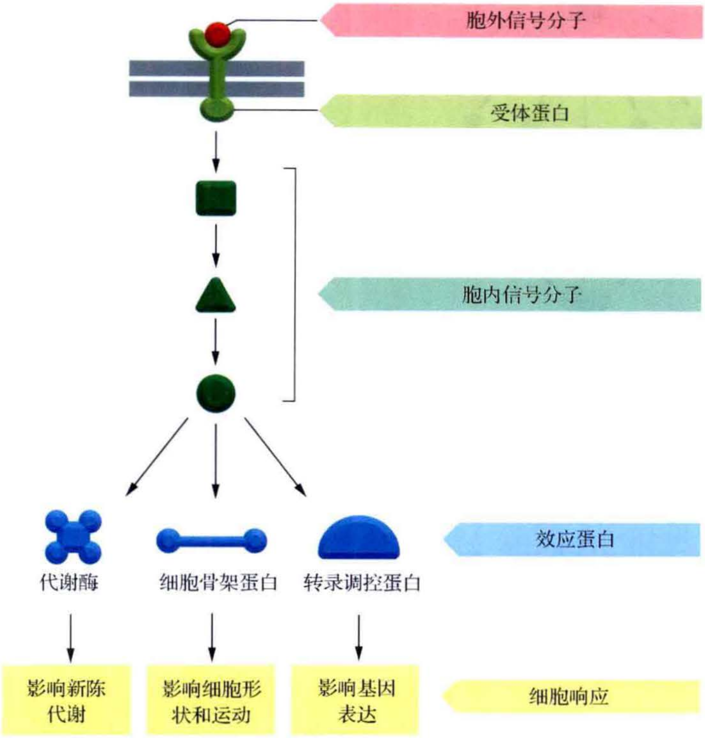


图 16-12 许多胞外信号经细胞表面受体作用使得细胞行为发生改变。受体蛋白激活一条或多条胞内信号传导途径,每一个都被一系列胞内信号分子所介导。这些分子可以是蛋白或是小信使分子,这里只展示了一条途径。这些信号分子中的一部分与特异的效应蛋白相互作用,通过多种方式变更这些蛋白来改变细胞的行为。

这些**细胞内信号传递途径**中的成分具有一个或多个关系重大的功能(图 16-13)。

(1) 它们可以简单的往前传递信号,因此有助于把信号在细胞中传播开。

(2) 它们可以把接收到的信号放大,使其增强,所以几个细胞外信号分子足以激起一个巨大的胞内反应。

(3) 它们可以从来自不止一种胞内信号传递途径中接收信号,在往前传递的时候将其整合。

(4) 它们可以分流信号到不止一个信号传递途径或是效应蛋白,创建信息流程图中的分支,激起一个复杂的反应。

作为整合功能的部分,在信号转导途径中的许多步骤对于其他因子的调节是开放的,既有胞内因子又有胞外因子,所以每一个信号的效果都是针对细胞内外的普遍情况而量身定做的。

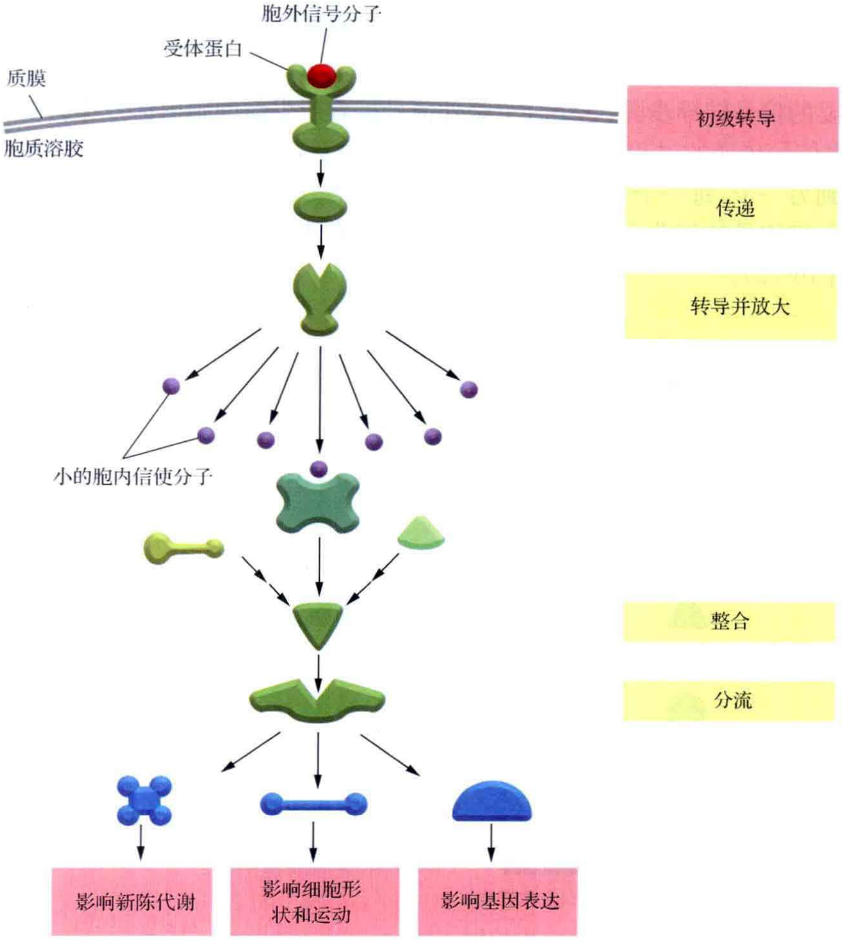


图 16-13 胞内信号蛋白可以传递、放大、整合和分流输入的信号。一个在细胞表面的受体蛋白可以将胞外信号转导为胞内信号，通过启动一条或者多条信号传导途径将信号传递到细胞内部。每一条途径都包括了胞内信号蛋白，该蛋白可以作用在图中所示的多种方式中的一种，例如，一些蛋白可以如图所示的那样整合来自其他途径的信号。过程中的许多步骤可以被细胞内其他的分子或是事件（没有展示出来）所调节。我们将在本章的后面讨论小的胞内信使分子的产生和功能。

16.1.7 一些细胞内信号传导蛋白起分子开关的作用

许多关键的胞内信号传导蛋白的作用是**分子开关**：一个信号的接收导致它们从非活性状态到活性状态的切换。一旦激活，这些蛋白会启动信号传导途径上的其他蛋白。随后它们持续保持激活态，直到某些其他过程将它们再次关闭。以往人们对失活的重要性未予重视。如果信号通路在传送一个信号之后要得以恢复，并使自己准备好传送另外一个信号出去，每一个分子开关必须重新设置到它原来未被激活的状态。这就是说，在激活机制的每一阶段务必存在一个失活的机制，激活与失活这两个机制对信号系统的功能是同等重要的。

能作为分子开关的蛋白几乎都属于以下这两大类蛋白之一。第一种显然也是最大一类的开关蛋白，其活性由磷酸化与去磷酸化开启或关闭。这种化学修饰正如在第 4 章所讨论的（图 4-38）。就这些蛋白分子开关而言，通过**蛋白激酶**把一个磷酸基团加到开关蛋白上，开关朝向一个方向，而通过**蛋白磷酸酶**把开关蛋白上的磷酸基团去除，开关再次朝向另一个方向（图 16-14A）。任何由磷酸化所调控的蛋白的活性无时无刻都是被将它磷酸化的激酶的活性和将它去磷酸化的磷酸酶的活性这两者的平衡所决定的。

受磷酸化控制的许多开关蛋白本身就是蛋白激酶，这些蛋白激酶通常组成磷酸化级联反应：一个由磷酸化而激活的蛋白激酶接着又磷酸化顺序中的下一个蛋白激酶，如此等等，依次向

前传送信号并在这级联反应过程中放大、分流和调节信号。在胞内信号传导途径中作用的两个主要的蛋白激酶种类是：最广泛的**丝氨酸/苏氨酸激酶**，正如它们名字暗示的，是在丝氨酸或是苏氨酸上磷酸化；另一类是**酪氨酸激酶**，在酪氨酸上磷酸化。

另一类主要的参与信号传递的开关蛋白是 **GTP 结合蛋白**。根据开关蛋白是否结合有 GTP 或 GDP 而分别决定这些开关是激活态或非活性态(图 16-14B)。一旦 GTP 结合而激活，这些蛋白具有内在的 GTP 水解(GTP 酶：GTPase)活性，然后它们通过将其结合的 GTP 水解成 GDP 而将自身关闭。GTP 活性开关蛋白的一类包含有一个巨大的 GTP 结合蛋白三聚体(也称为 G 蛋白)，它通过 G 蛋白偶联受体传递信息，我们将马上详细讨论。

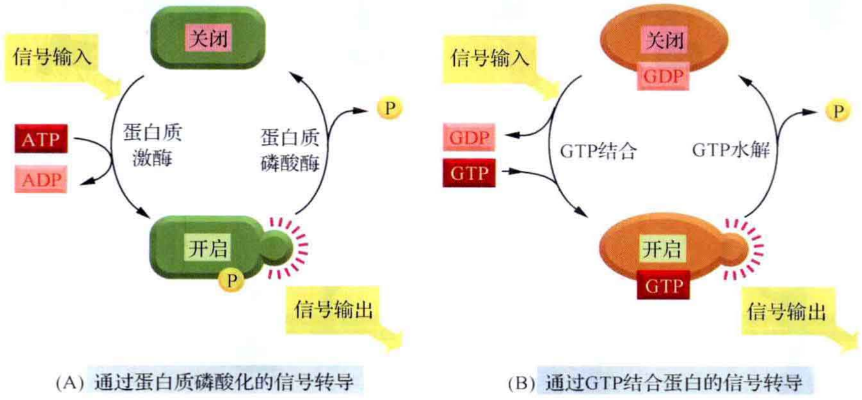


图 16-14 作为分子开关的细胞内信号蛋白。(A) 一些胞内信号蛋白是通过加上一个磷酸基团而被激活，去除一个磷酸集团而失去活性。蛋白激酶把 ATP 末端的磷酸基团转移至信号蛋白从而以共价键的方式将这个磷酸基加到信号蛋白上，此磷酸基团再由蛋白磷酸酶把它去除。(B) 在别的例子中，一个 GTP 结合的信号蛋白是通过把所结合的 GDP 交换为 GTP 而诱发的(某种意义上，把磷酸基加到了蛋白上)。这就激活了蛋白；结合着的 GTP 水解为 GDP 就会把这个蛋白关闭。

16.1.8 细胞表面受体分为三个主要的类别

所有的细胞表面受体蛋白都通过结合胞外信号分子，将信息转导到一个或多个胞内信号转导分子上从而改变细胞的行为。根据所使用的转导机制的不同，这些受体可以分成三大家族。①离子通道偶联受体产生一个穿越质膜的离子流，这将改变膜的势能从而产生电流(图 16-15A)。②G 蛋白偶联受体激活膜结合的 GTP 结合蛋白三聚体(G 蛋白)，然后在质膜中不是激活一种酶就是激活一个离子通道，起始其他效应的级联反应(图 16-15B)。③酶联受体在细胞里面的作用是酶，要不就是与酶相关(图 16-15C)；当被激活后，该酶将会激活大量的胞内信号传导途径。

这三大种类不同类型受体的总数甚至大于作用于这些受体的胞外信号的总数，因为许多细胞外信号分子有一种类型以上的受体。而且，一些信号分子可结合的受体不止一个种类。例如，神经递质乙酰胆碱通过离子通道偶联受体作用于骨骼肌，而对心肌细胞则通过 G 蛋白偶联受体起作用。这两种类型的受体产生不同的细胞内信号，因而以不同的方式使两种不同类型的肌细胞对乙酰胆碱起不同的反应，提高骨骼肌的收缩和降低心脏收缩的频率和力度(图 16-5A 和 C)。

身体为其自身信号传递所需要的众多的各种细胞表面受体也是许多外源物质的靶子。这些外源物质干扰我们的生理功能和感觉，它们可以是海洛因和尼古丁到镇静剂与辣椒粉。这些物质模拟受体的天然配体，从而占据了正常配体结合位置或者是其他的位点，或阻断或过度刺

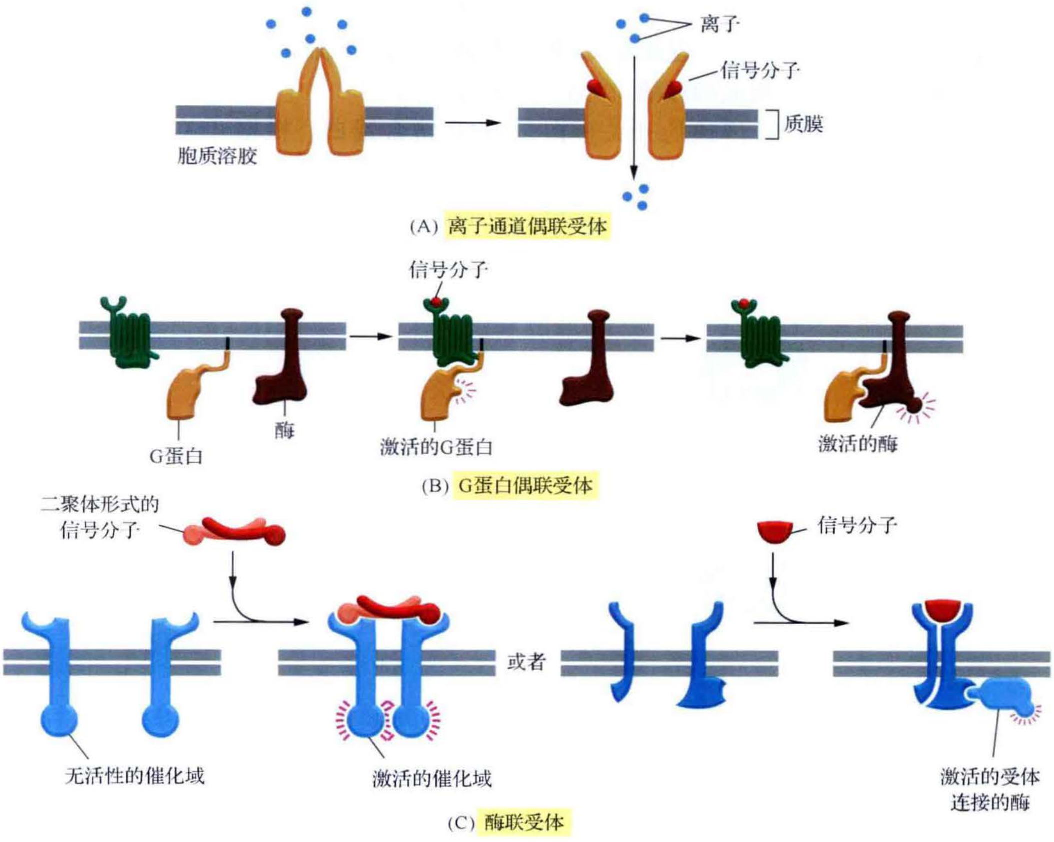


图 16-15　三类细胞表面受体。(A) 一个离子通道偶联受体与它的胞外信号分子结合，并对此做出响应而开启(或关闭，未显示)。这个通道又叫作递质门控离子通道。(B) 当 G 蛋白偶联受体和它的配体结合时，信号首先传递至一个在质膜另一侧的 G 蛋白，随后 G 蛋白激活(或抑制)一个位于质膜同侧的靶酶(或离子通道，未显示)。为了简化起见，G 蛋白此处以单独一个分子来表示。正如我们所知道的，事实上它是由三个亚基构成的一个复合物。(C) 一个酶联受体和它的细胞外配体相结合，启动膜对侧受体另一端的酶活性。许多酶联受体都有自己的酶活性(*左边*)，同时其他酶联受体则依赖于与激活受体连接的酶(*右边*)。

激受体的自然活性。许多药物和毒素是以这种方式起作用的(表 16-2)。大部分制药工业致力于研究那些结合到某种特殊类型细胞表面受体因而能发挥明确效应的物质。

表 16-2　作用在细胞表面受体的一些外源物质

化学物质	信号分子	受体作用	效应
地西泮和巴比妥类	γ-氨基丁酸(GABA)	刺激 GABA 活化的离子通道偶联受体	缓解焦虑；镇静作用
尼古丁	乙酰胆碱	刺激乙酰胆碱活化的离子通道偶联受体	收缩血管；升高血压
吗啡和海洛因	内啡肽和脑啡肽	刺激 G 蛋白偶联的鸦片受体	止痛；精神陶醉
箭毒	乙酰胆碱	阻断乙酰胆碱活化的离子通道偶联受体	阻断神经肌肉传递，导致麻痹
士的宁	甘氨酸	阻断甘氨酸活化的离子通道偶联受体	阻断脊髓和大脑中抑制突触，导致癫痫和肌肉痉挛

16.1.9 与离子通道偶联的受体把化学信号转变成电信号

在所有类型的细胞表面受体中，**离子通道偶联受体**（也称递质门控离子通道）以最简单最直接的方式行使功能。在神经系统中，这些受体用于跨越突触的快速信号传递。它们把送至靶细胞外边的神经递质脉冲形式的化学信号直接转变为电信号，这个电信号的表现形式为跨质膜电位差发生改变（图 12-42）。当神经递质与受体结合后，这类受体构象就发生改变，开启或关闭用于专一性离子流的通道，如 Na^+、K^+、Ca^{2+} 或 Cl^-（图 16-15A 和视频 16.1）。离子受电化学梯度的驾驭，急速地涌入或涌出细胞，在 1ms 左右的时间内创造一个膜电位的变化。这种电位变化可以触发神经冲动，或者使得其他神经递质产生同样效应更难或是更容易。正如我们在本章后面要讨论的，Ca^{2+} 通道的开启具有其他重要的作用，因为细胞内钙浓度的改变可极大地改变许多钙离子相应蛋白的活性。离子通道偶联受体的功能已经在第 12 章中有更加详细的讨论。

离子通道偶联受体是神经系统和其他电兴奋细胞如肌细胞所特有的，而 G 蛋白偶联受体和酶联受体实际上为机体的每一类细胞所应用。本章其余的大部分将涉及它们以及它们启动的信号转导过程。

16.2 G 蛋白偶联受体

G 蛋白偶联受体(GPCR)形成细胞表面受体的最大家族。在人类中有超过 700 种 G 蛋白偶联受体，在小鼠中仅仅涉及嗅觉就有 1000 种。它们介导对极为多样化的胞外分子做出反应，这些细胞外信号分子包括激素、局部介质、神经递质。这些信号分子的结构像它们的功能一样变化多样：它们可以是蛋白质、小肽、氨基酸或脂肪酸的衍生物。对于它们中的每一个信号分子，都存在着一个或一套不同的受体。正因为 G 蛋白偶联受体参与了如此广泛的细胞进程，对于针对治疗大多数疾病而进行的药物研发视其为一个极具吸引力的靶点。现有的药物有大概一半是通过 G 蛋白偶联受体作用的。

尽管和它们结合的信号分子多种多样，但是已分析过的所有 G 蛋白偶联受体都具有相似的结构，即由一条来回穿过脂双层七次的多肽链组成（图 16-16）。这个七次跨膜受体蛋白超家族包括视紫红质（脊椎动物眼中的光激活受体蛋白）和脊椎动物鼻中的嗅觉受体，以及参与单细胞生物酵母交配程式中的受体（图 16-1）。它在进化上起源是十分古老的，甚至在细菌中也存在着结构类似的膜蛋白，例如，具有光驱动的 H^+ 泵作用的细菌视紫红质（图 11-28）。不过在细菌中，这种蛋白尽管很像 G 蛋白偶联受体，这些细菌的受体不通过 G 蛋白作用，而是和其他信号转导系统偶联。

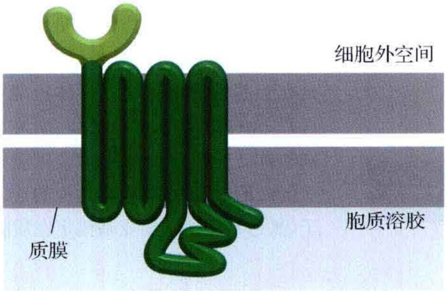


图 16-16 所有的 G 蛋白偶联受体都具有一个相似的结构。受体胞质溶胶的部分主要负责和细胞内 G 蛋白的结合。结合信号分子的受体具有一个很大的胞外域（淡绿色）。该结构域连同一些跨膜片段结合蛋白配体。但是，识别小信号分子如肾上腺素或乙酰胆碱的受体，就有小的胞外域，配体结合部位常深藏在膜面内，由跨膜段的几部分氨基酸组成（本图未显示）。

16.2.1 G 蛋白偶联受体的刺激作用激活 G 蛋白亚基

当一个细胞外信号分子和一个七跨型受体相结合时，受体蛋白首先经历一种构象变化，改

变了受体的胞内面,使得受体能够和位于质膜胞内侧的一种 **G 蛋白**相互作用。为了解释这一激活何以导致信号转导,我们必须首先考虑 G 蛋白是怎么构建的,以及 G 蛋白是如何行使其功能的。

G 蛋白以多种形式存在,每一种 G 蛋白都有特定的一组受体和一组靶酶或质膜上的离子通道。然而,所有这些 G 蛋白都有一个类似的一般结构并以相雷同的方式运作。G 蛋白由三个蛋白亚基 α、β 和 γ 组成。它们中的两者被短的脂质尾拴在质膜上。在未受刺激的状态,α 亚基与 GDP 相结合,G 蛋白是静止的(图 16-17A)。当一个细胞外配体与受体结合后,改变了的受体就激活了 G 蛋白。这是通过降低 α 亚基与 GDP 的亲和力并代之以转变成 GTP 而完成的。在一些情况下,这种激活被认为引起 G 蛋白亚基分解,从而使得激活的 α 亚基抓着自己的 GTP 与 βγ 复合体分开,而复合体也被激活(图 16-17B)。无论它们是否分离,一个 G 蛋白的这两个激活部分(α 亚基和 βγ 复合物)都能直接与位于质膜的靶蛋白相互作用,从而可以还把信号传递到细胞中别的目的地。这些靶蛋白与 α 或 βγ 亚基结合得愈长久,传递的信号会愈强并拖延得更长。

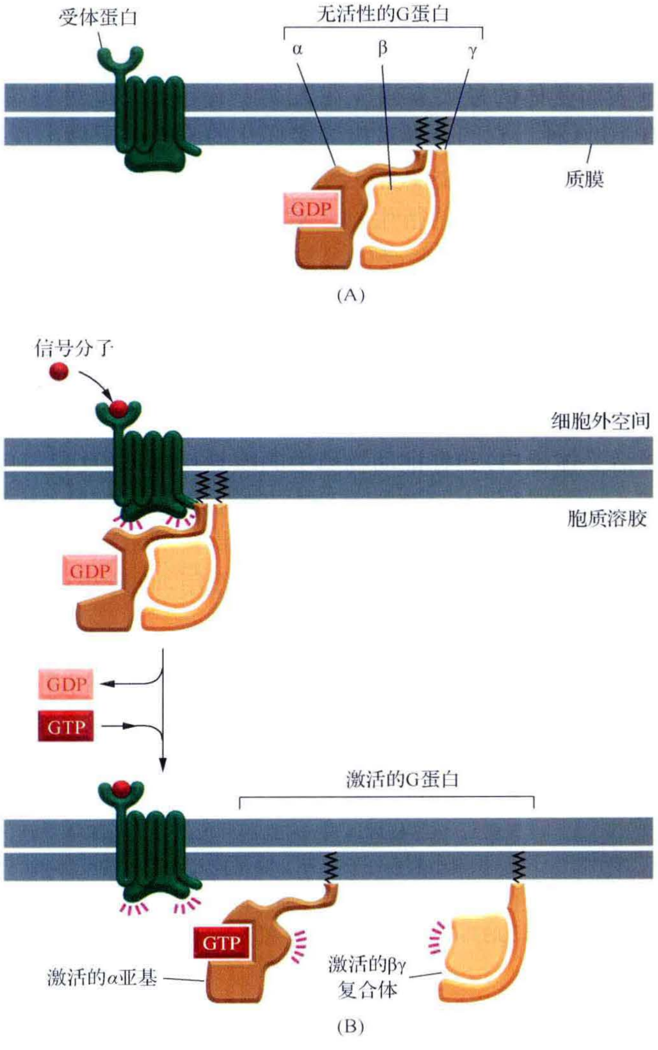


图 16-17 一个激活的 G 蛋白偶联受体通过促进 α 亚基驱除自身 GDP 并选择 GTP 从而激活 G 蛋白。(A) 在未刺激态,受体和 G 蛋白两者都是无活性的。尽管它们在这里显示的是质膜上独立分开的实体,但是至少在有些情况下它们是连接着的复合体。(B) 与一个胞外信号结合将改变受体的构象,然后依次改变结合的 G 蛋白的构象。G 蛋白 α 亚基的改变使得 GDP 被 GTP 替换。该变化将激发一个构象变化,同时激活 α 亚基和 βγ 复合体,它们再选择质膜上的靶蛋白进行相互作用(视频 16.2)。当细胞外信号分子和受体结合着时,受体保持在激活态,因此它能以这种方法催化很多 G 蛋白分子。尽管原来认为 G 蛋白的激活总是导致 α 亚基和 βγ 复合体的物理解离(如图所示),但是在一些情况下这个三聚体可能仅仅是打开,允许激活的 α 亚基和 βγ 复合体分别和自己的靶蛋白作用。这里需要注意 G 蛋白的 α 和 γ 亚基都共价的连着脂分子(黑色),用于帮助亚基锚定在质膜上。

α 和 βγ 亚基维持状态“开启”——即可以用来传递信号状态的时间是由 α 亚基的行为所限制的。α 亚基具有内在的 GTP 水解酶活性，最终会把结合它的 GTP 水解为 GDP，使得整个 G 蛋白回归为原始的、非激活的构象状态(图 16-18)。GTP 的水解和失活一般是在 G 蛋白被激活后的几秒钟里发生的。非激活状态的 G 蛋白这个时候就可以被其他的激活后的受体再次激活。

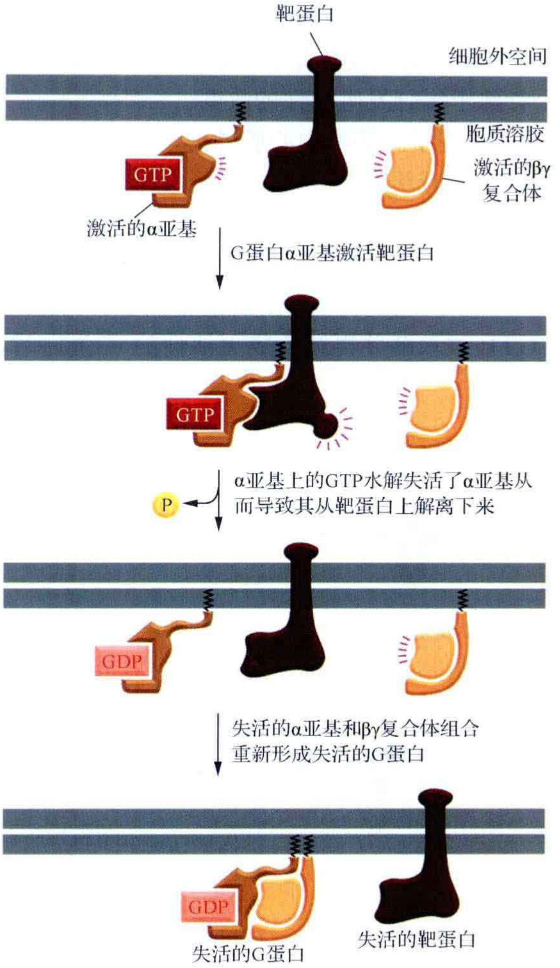


图 16-18　G 蛋白 α 亚基通过水解与其结合的 GTP 而关闭自己。当一个激活的 α 亚基与其靶蛋白相遇并结合时，它就会使靶蛋白激活(在某种情况下使靶蛋白失活，这里未表示)。该激活在两者接触状态下一直维持。只需几秒钟，在 α 亚基上的 GTP 被 α 亚基的内在 GTP 酶活性水解为 GDP，使 α 亚基无活性，于是 α 亚基从靶蛋白解离，重新与一个 βγ 复合体结合，再形成一个无活性的 G 蛋白。此时 G 蛋白已准备好与另一个激活的受体偶联，如图 16-17(B)所示。激活的 α 亚基和激活的 βγ 复合体都能与质膜上的靶蛋白作用(视频 16.2)。

G 蛋白的开关证明了之前提及的一个细胞信号传递的一般原理：关闭一个信号的机制与开通一个信号的机制同样重要(图 16-14B)。关闭信号机制提供了许多的控制机会，以及同样多的意外事故风险。霍乱病为我们提供了一个例子。霍乱是由一种在肠道内繁殖的细菌引起的疾病，在肠道产生一种叫作*霍乱毒素*的蛋白质。霍乱毒素进入衬覆肠壁的细胞中，修饰某一特定的 G 蛋白 α 亚基(称为 G_S，因为它*激活*了腺苷酰环化酶，不久将会讨论)，以致 G 蛋白再也不能水解和它结合的 GTP。这个改变了的 α 亚基因而无限期地保持在激活状态，不断地传送信号给它的靶蛋白。结果在肠细胞中导致 Cl^- 与水过量的外流到肠道，引起急性腹泻和脱水，如不采取紧急步骤补充失去的水和电解质，就会导致死亡。

一个同样的情况发生在百日咳，一种婴儿常见的呼吸道感染疾病，现在已经有了常规疫苗接种。在该情况中，致病的细菌聚集在肺部，产生一种叫*百日咳毒素*的蛋白。该蛋白改变了一个不同的 G 蛋白 α 亚基(称为 G_i，因为它*抑制*了腺苷酰环化酶)。此时，毒素造成的改变使得 G

蛋白失去了功能，一直被锁定在 GDP 结合的失活的状态中。抑制 G_i 就像激活 G_S，结果是生成了一个长期的不合适的信号，在本案例中引起咳嗽。霍乱毒素造成的腹泻效应和百日咳毒素刺激的咳嗽效应都有助于致病的细菌从一个宿主传播到另一个。

16.2.2 某些 G 蛋白直接调节离子通道

G 蛋白亚基所识别的靶蛋白不是质膜上的离子通道就是酶。哺乳动物中大约有 20 种 G 蛋白，每一种都是被特定的一组细胞表面受体所激活，接着再致力于激活特定的一组靶蛋白。按照这种方式，只要一个细胞外信号分子和一个 G 蛋白偶联受体结合，便会导致对那些可能的靶蛋白中与该信号和该细胞类型相对应的一个特殊子集合发生活性的改变。

我们首先察看一个 G 蛋白直接调节离子通道的例子。动物中心脏的搏动是由两套神经纤维控制的：一套使心搏加快，另一套使心搏减缓。发送减缓心搏信号的神经纤维是通过释放与心肌细胞上 G 蛋白偶联受体结合的乙酰胆碱来行使功能的。该 G 蛋白偶联受体激活 G 蛋白 G_i。在这个例子中，βγ 复合体是一个激活的信号传导成分：它和心肌细胞质膜 K^+ 通道的细胞内表面结合，迫使离子通道呈开启的构象（图 16-19A）。这使得 K^+ 流出细胞，从而降低了细胞的电兴奋性（图 16-19B）。当和 α 亚基结合的 GTP 被水解并再结合成无活性的 G 蛋白时，K^+ 通道重新关闭，信号停止（图 16-19C）。

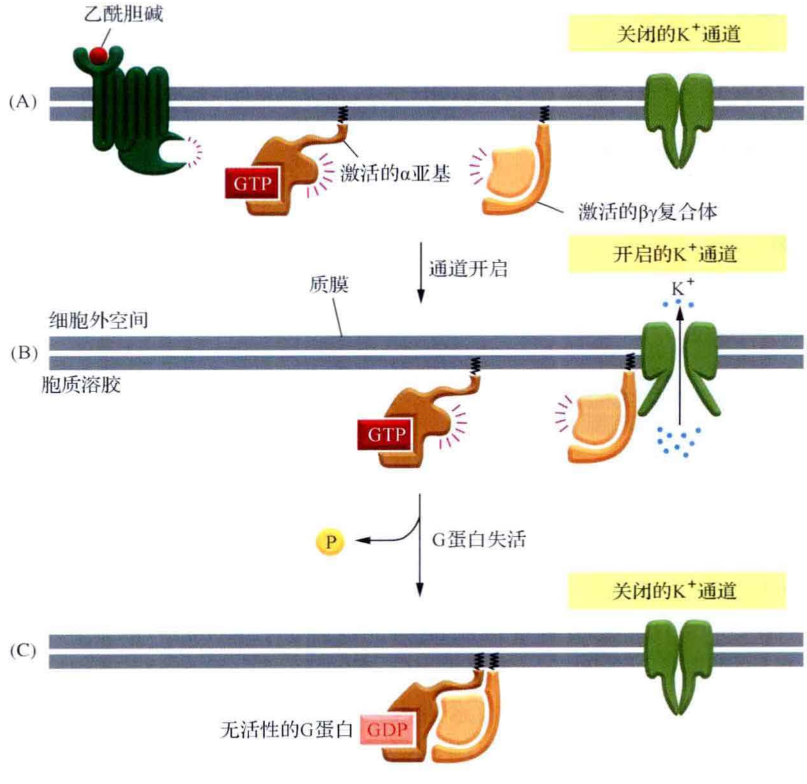


图 16-19 G_i 蛋白把受体激活作用与心肌细胞质膜中 K^+ 通道的开放直接偶联。（A）心肌细胞的 G 蛋白偶联受体和神经递质乙酰胆碱的结合导致 G 蛋白的激活，G_i。（B）βγ 复合体的激活打开了心肌细胞质膜上的 K^+ 通道，允许 K^+ 离开细胞，降低细胞的兴奋性。（C）水解结合着的 GTP 引起 α 亚基无活性，导致 G 蛋白回到其无活性状态，使得 K^+ 通道关闭。

16.2.3 某些 G 蛋白激活与膜结合的酶

当 G 蛋白与离子通道相互作用时，将立即引起细胞状态与行为的改变。G 蛋白和靶酶间相互作用具有更复杂的结果，导致产生额外的细胞内信号传导分子。G 蛋白最常见的靶酶是负责产生小信号分子环化 AMP 的**腺苷酸环化酶**和**磷脂酶 C**。磷脂酶 C 负责产生小信号分子**肌醇三磷酸**和**二酰甘油**。腺苷酸环化酶和磷脂酶 C 是由不同类型的 G 蛋白激活的，细胞可以把

胞内小信号分子的产生与各种胞外信号耦合起来。如我们前面所见，这种耦合既可能是刺激性的也可能是抑制性的。我们在此集中讨论激活G蛋白刺激酶活性的情形。在这些信号通路中产生的细胞内小信号分子常被称为**第二信使**（第一信使是细胞外信号）。大多数第二信使分子是在膜结合酶（如腺苷酸环化酶或磷脂酶C）被激活时大量产生的，然后它们很快从它们的产生处扩散出去，把信号传播到整个细胞（图16-20）。

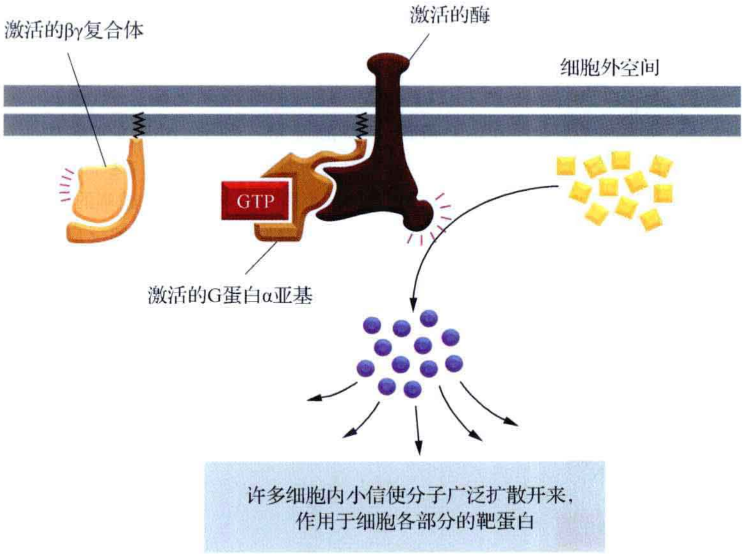


图16-20　G蛋白激活的酶催化细胞内小信使分子的合成。因为每一个激活的酶产生许多小信使分子，在信号通路这一阶段的信号就被大大地放大。信号通过信使分子和细胞内其他靶蛋白结合影响靶蛋白的活性，从而向前传递。

当然，不同的小信使分子产生不同的响应。我们首先考虑cAMP胞内浓度增加的后果，这将带领我们沿着由G蛋白偶联受体导引的信号通路中的一条而前行。我们随后再讨论二酰甘油和肌醇三磷酸的作用，这将把我们带向另外一个不同的信号通路。

16.2.4　cAMP通路可激活酶并开启基因

许多细胞外信号通过G蛋白偶联受体的作用影响**腺苷酸环化酶**的活性，从而改变细胞内**cAMP**信使分子的浓度。最通常的情况下，激活的G蛋白α亚基开启腺苷酸环化酶，导致来自ATP（ATP在细胞内总是存在的）的cAMP的合成突然大量地增加。因为它刺激了环化酶，该G蛋白被称为G_S。为了帮助结束信号，第二个酶，**cAMP磷酸二酯酶**，很快地把cAMP转变为通常的AMP（图16-21）。咖啡因作为兴奋剂的一种方式就是通过抑制在神经系统中的磷酸二酯酶，阻断cAMP的降解，从而保持该小信使分子的浓度很高。

在细胞中cAMP磷酸二酯酶有持续的活性。由于cAMP在细胞内降解得如此之快，它的浓度在对细胞外信号的反应中能很快地变化，在几秒钟内cAMP的浓度增加或降低可达10倍之多（图16-22）。cAMP是一个水溶性的分子，所以在某些情况下它能到达细胞内任何部位，把信号从膜上被合成的部位带往位于胞质溶胶、细胞核或细胞膜其他部位上的一些蛋白并与之作用。

cAMP所行使的各种效应主要是通过激活**cAMP依赖的蛋白激酶（蛋白激酶A，PKA）**。该酶通常与其他蛋白质形成复合物以无活性的形式存在。cAMP的结合迫使酶的构象改变，释放出这个活化的酶。激活的蛋白激酶催化一些细胞内蛋白上丝氨酸或苏氨酸的磷酸化，于是改变了这些蛋白的活性。在不同的细胞中有不同的靶蛋白组可被磷酸化，这解释了为什么cAMP的作用随靶细胞类型而异。

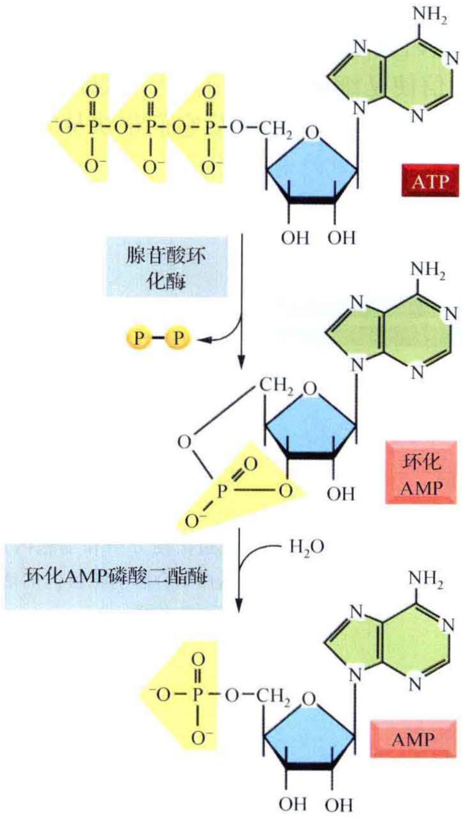


图 16-21 cAMP 通过腺苷酸环化酶合成，通过 cAMP 磷酸二酯酶降解。环化 AMP（也称为 cAMP）是从 ATP 通过环化反应而形成，这个环化反应去除 ATP 的两个磷酸基，把余下磷酸基的“游离”端与 ATP 分子的糖部分连起来。降解反应断开这第二个键，形成 AMP。

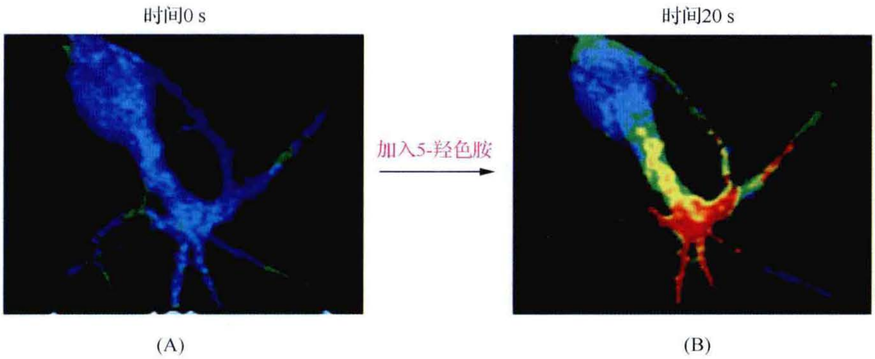


图 16-22 对胞外信号的响应使得 cAMP 浓度迅速提高。培养的神经细胞通过合成 cAMP 来对神经递质 5-羟色胺和 G 蛋白偶联受体的结合做出响应。可以通过注入一种荧光蛋白来监控细胞内 cAMP 的水平。当这种荧光蛋白和 cAMP 结合时，荧光强度发生变化。蓝色表示低水平的 cAMP，黄色表示中等水平，红色表示高水平。(A) 在静息细胞中，cAMP 的浓度大约是 5×10^{-8} mol/L。(B) 把 5-羟色胺加入至培养基中后 20 s，细胞内 cAMP 的浓度上升超过 20 倍（至大于 10^{-6} mol/L），这些地方正是 5-羟色胺受体聚集的地方。（蒙 Roger Tsien 惠许）

细胞响应的许多类型都是通过 cAMP 介导的，表 16-3 列举了一部分。如表所示，不同的靶细胞对改变细胞内 cAMP 水平的细胞外信号反应有很大的差异。比如，当我们受惊或是兴奋的时候，肾上腺释放激素肾上腺素。肾上腺素在血流中循环，和许多细胞所具有的一类 G 蛋白偶联受体（肾上腺素能受体）结合。尽管所引起的结果随细胞类型而异，但都有助于机体准备突然行动。例如，在骨骼肌，肾上腺素激发细胞内 cAMP 水平的增加，导致糖原（葡萄糖的聚合储存形式）分解。这是通过激活 PKA 实现的，PKA 激活的同时导致促糖原分解的酶的激活

(图 16-23)和驱使糖原合成的酶的抑制。通过刺激糖原的分解和抑制其合成，cAMP 的增加将可作为燃料参与预期的肌肉活动的葡萄糖增加到最大量。肾上腺素也作用于脂肪细胞，刺激三酰甘油(脂肪的储存形式)降解为脂肪酸——可供 ATP 生成立刻使用的细胞燃料(在第 13 章讨论)。这些脂肪酸可被输出到其他需要能量的细胞中使用。

表 16-3　某些通过 cAMP 介导细胞响应

细胞外信号分子*	靶组织	主要反应
肾上腺素	心脏	增加心率，促进收缩
肾上腺素	骨骼肌	糖原分解
肾上腺素，ACTH，胰高血糖素	脂肪	脂肪分解
ACTH	肾上腺	皮质醇分泌

* 虽然在此处列举的所有信号分子都是激素，但对于局部的媒介分子和神经递质的某些反应也是通过 cAMP 介导的。

在某些情况下，激活 cAMP 级联反应的效应是很快的。例如，在骨骼肌中，糖原的分解在肾上腺素结合到受体后几秒钟内就发生(图 16-23)。而在其他情况下，cAMP 的作用涉及改变

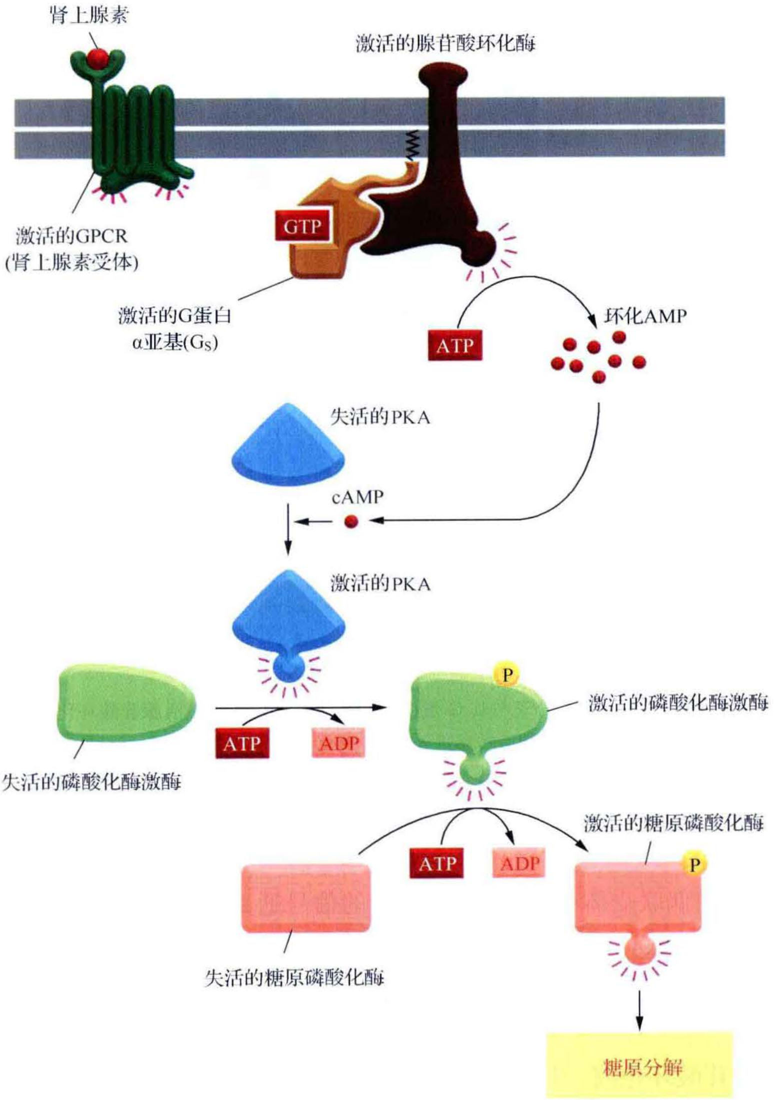


图 16-23　肾上腺素刺激骨骼肌细胞中的糖原分解。激素激活一个 G 蛋白偶联受体从而开启一种 G 蛋白(G_S)，后者激活腺苷酸环化酶，促进 cAMP 大量产生。cAMP 再依次激活 PKA，而 PKA 磷酸化和激活一种酶叫磷酸化酶激酶。该激酶再激活糖原磷酸化酶，后者分解糖原。因为这些反应不需要涉及基因转录的改变或是新蛋白的合成，它们发生的速度很快。

基因表达,需要数分钟或几个小时(图 16-7)。在这些缓慢的响应中,PKA 专一性地磷酸化转录调控蛋白,激活选定基因的转录。下丘脑的内分泌细胞中,胞内 cAMP 量的增加刺激了生长激素抑制素的产生,它是一种肽激素,随后抑制了其他细胞中各种激素的释放。同样的,脑部某些神经元里 cAMP 浓度的增加控制了一些蛋白的产生,而此蛋白与某些学习能力有关。图 16-24显示了一个典型的从质膜到核的 cAMP 介导途径。

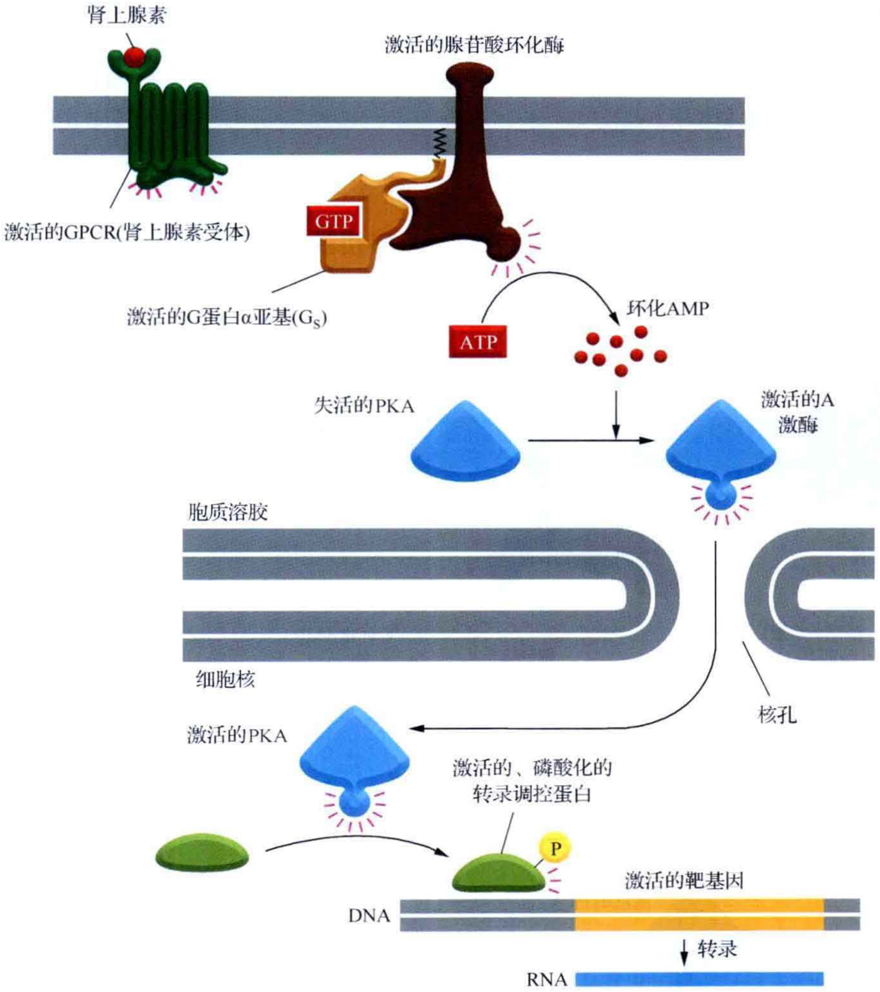


图 16-24 胞内 cAMP 浓度上升激活基因转录。信号分子与其 G 蛋白偶联受体的结合导致激活腺苷酸环化酶并升高胞内 cAMP。cAMP 激活胞质溶胶中的 PKA,它随后转移进入核,磷酸化一个转录调控蛋白。一旦被磷酸化,这些蛋白就能刺激一整套靶基因的转录(视频 16.3)。这个信号途径控制细胞中的许多过程,从内分泌细胞的激素合成到脑长期记忆所需蛋白的产生。激活的 PKA 可以同样磷酸化从而调节胞质溶胶中其他的蛋白和酶(图 16-23)。

现在,我们需要转到由 G 蛋白偶联受体引导,其他酶介导的信号通路中——以膜结合磷脂酶 C 的活化而开始的信号通路,所产生的第二信使是肌醇磷脂和二酰甘油。

16.2.5 肌醇磷脂途径引起细胞内 Ca^{2+} 升高

一些 G 蛋白偶联受体通过一种类型的 G 蛋白行使它们的功能。这种类型的 G 蛋白激活的膜结合酶是**磷脂酶 C**,而不是腺苷酸环化酶。列举几个例子于表 16-4。

表 16-4 磷脂酶 C 激活所介导的某些细胞响应

信号分子	靶组织	主要反应
抗利尿激素(一种蛋白质激素)	肝脏	糖原分解
乙酰胆碱	胰腺	分泌淀粉酶(一种消化酶)
乙酰胆碱	平滑肌	收缩
凝血酶(一种蛋白水解酶)	血小板	凝集

一旦被激活,磷脂酶 C 通过切割质膜组分的脂分子来传播信号。该分子即**肌醇磷脂**(有糖肌醇结合在头部的磷脂),少量存在于质膜脂双层的内侧那一层中(图 11-17)。因为涉及这种磷脂,所以由磷脂酶 C 激活作用开始的信号通路常称作肌醇磷脂途径。在几乎所有的真核细胞中都有它的身影,可以调节许多不同的效应蛋白。

该途径是这样工作的。当磷脂酶 C 切去肌醇磷脂上的糖磷酸头部,产生两个小的信号转导分子:**肌醇-1,4,5-三磷酸(IP_3)**和**二酰甘油(DAG)**。IP_3 是水溶性的糖磷酸,经胞质溶胶扩散开去,同时酯二酰甘油仍然包埋在质膜中。两个分子在传递信号上都起到了关键的作用,我们将依次介绍它们。

IP_3 十分迅速的释放到胞质溶胶中,到达内质网,与其结合从而打开内质网膜上的 Ca^{2+} 通道。储存在内质网内的 Ca^{2+},经过这些打开的通道涌进胞质溶胶(图 16-25),急剧升高胞质溶胶的游离 Ca^{2+} 浓度,而通常胞质溶胶内游离 Ca^{2+} 保持非常低的水平。Ca^{2+} 再把信号传递给其他的蛋白,随后我们将细述。

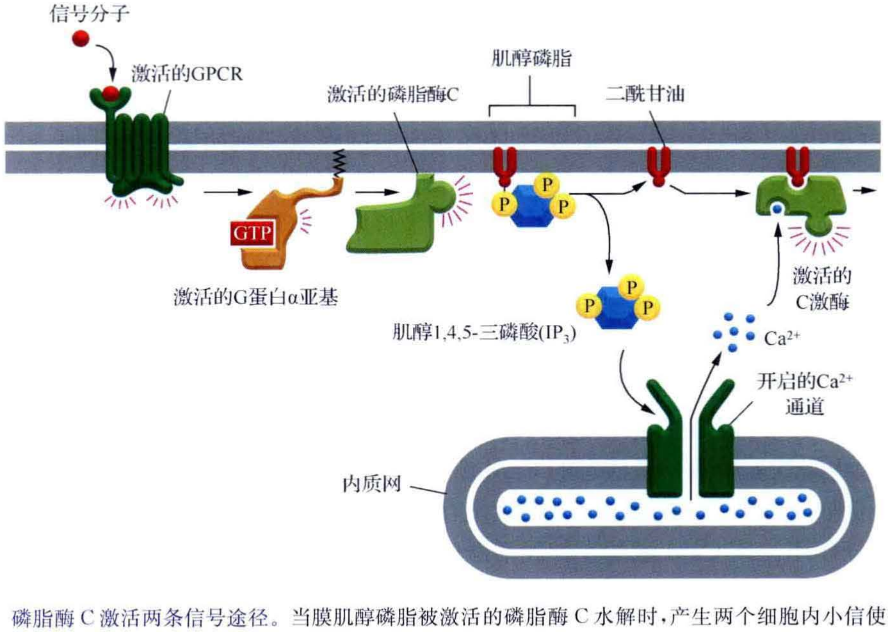


图 16-25 磷脂酶 C 激活两条信号途径。当膜肌醇磷脂被激活的磷脂酶 C 水解时,产生两个细胞内小信使分子。肌醇 1,4,5-三磷酸(IP_3)经胞质溶胶扩散,并通过和内质网膜中特殊的 Ca^{2+} 通道结合使其开放,从而从内质网释放 Ca^{2+}。巨大的 Ca^{2+} 电化学梯度引起 Ca^{2+} 涌出至胞质溶胶。二酰甘油保留在质膜中,与 Ca^{2+} 一起帮助激活从胞质溶胶中被招募到质膜的胞质面的蛋白激酶 C。激酶 C 随后磷酸化自身的一套胞内蛋白,将信号广泛传播。

二酰甘油是和 IP_3 一起产生的,有助于招募和激活一种蛋白激酶,该激酶从胞质溶胶移位到质膜上。这个激酶就是**蛋白激酶 C(PKC)**,因为此酶的激活也需要 Ca^{2+} 的结合(图 16-25)。一旦激活,PKC 使一组细胞内蛋白质磷酸化。这些细胞内蛋白质随细胞类型而异。尽管大部分被磷酸化的靶蛋白有所不同,但其作用原理与 PKA 的相同。

16.2.6 Ca^{2+}信号触发诸多生物学过程

鉴于 Ca^{2+} 作为小的细胞内信使具有重要和广泛的作用，因此我们必须先离开本章主题去考虑 Ca^{2+} 的一般功能。细胞对许多不同信号的反应都可以引起胞质溶胶游离 Ca^{2+} 水平的升高，不仅仅限于那些通过 G 蛋白偶联受体而起作用的信号。例如，卵细胞受精时 Ca^{2+} 通道打开，导致浓度突然上升而触发启动胚胎发育（图 16-26）；在骨骼肌细胞中，来自神经的信号引发胞质溶胶 Ca^{2+} 的升高从而引起肌肉收缩；在许多分泌细胞包括神经细胞，Ca^{2+} 启动分泌。Ca^{2+} 通过和 Ca^{2+} 敏感蛋白的结合和通过对 Ca^{2+} 敏感蛋白活性的影响来执行其上述所有这些功能。

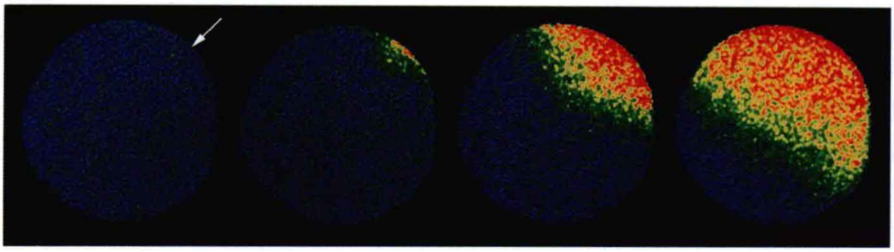


图 16-26 卵子受精启动胞质溶胶 Ca^{2+} 的增加。受精前，海星卵被注射有对 Ca^{2+} 敏感的荧光染料。当精子进入卵子，可观察到从内质网释放的一个胞质溶胶钙波（红），它自精子进入部位（箭头）起掠过这个卵。这个钙波刺激卵细胞质膜改变，防止其他精子进入并启动胚胎的发育。为了抓住这个钙波，请看视频 16.4。（蒙 Stephen A. Stricker 惠许）

和细胞外液的 Ca^{2+} 浓度和内质网内的 Ca^{2+} 浓度相比，游离 Ca^{2+} 在胞质溶胶中的正常浓度是极低的（10^{-7} mol/L）。这些差别主要是通过膜泵主动地把胞质溶胶内的 Ca^{2+} 泵送穿过质膜至胞外或泵送入内质网来维持的。其结果是形成一个跨内质网膜和跨细胞质膜的陡峭的 Ca^{2+} 电化学梯度（见第 12 章）。当一个信号暂时打开内质网膜或细胞质膜上的任何一个 Ca^{2+} 通道时，Ca^{2+} 就顺其电化学梯度而下涌入胞质溶胶，触发了胞质溶胶中 Ca^{2+} 响应蛋白的变化。平时用来保持在胞质溶胶中 Ca^{2+} 浓度低水平的泵，同样可以用来结束 Ca^{2+} 信号。

Ca^{2+} 在胞质溶胶内的作用大部分是间接的，并且是通过 Ca^{2+} 和各种 Ca^{2+} 响应蛋白的相互作用来进行的。其中最广泛和最普遍的是**钙调蛋白**。钙调蛋白存在于所有被研究过的真核细胞的胞质溶胶中，包括植物、真菌、原生动物。当钙调蛋白与 Ca^{2+} 结合时，其构象改变使之能够和细胞内范围广泛的靶蛋白相缠绕，从而改变它们的活性（图 16-27）。一类特别重要的钙调蛋白的靶蛋白是 **Ca^{2+}/钙调蛋白依赖的蛋白激酶（CaM 激酶）**。当钙调蛋白和 Ca^{2+} 的复合物和它们结合时，这些酶就被激活。激活态的 CaM 激酶通过对选定的蛋白进行磷酸化，从而影响其他细胞过程。例如，在哺乳动物脑的突触内大量存在着一种特殊类型的 CaM 激酶，被认为对认知和记忆起部分作用。该 CaM 激酶在神经活跃时被 Ca^{2+} 信号的脉冲所激活，缺乏这种激酶的基因突变小鼠明显不能记住东西在何处。

16.2.7 细胞内信号级联放大能达到惊人的速度、敏感性和适应性

要叙述和 G 蛋白偶联受体相关的信号级联反应的各个阶段需要用很长时间，但这些步骤的执行常常只需几秒钟。设想一下，一场意外如何快速地使你心搏加快（肾上腺素刺激心肌的 G 蛋白偶联受体，加速心率），食品的香味如何使你迅速地分泌唾液（通过你鼻子用于嗅觉的 G 蛋白偶联受体和分泌细胞中用于乙酰胆碱的 G 蛋白偶联受体，刺激唾液分泌）。在 G 蛋白偶联受体介导的所有最快的反应中，包括眼睛对亮光的反应：对一个突然的闪光，视网膜响应最快的感光细胞（锥形的感光细胞，负责亮光中的色彩视觉）产生电反应只需 20 ms。

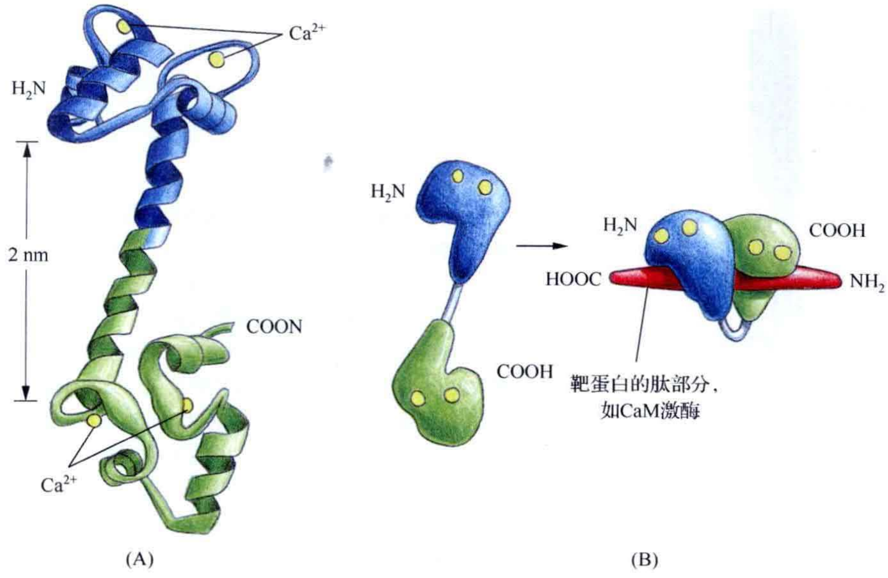


图 16-27 钙结合使得钙调蛋白形状发生改变。(A) 钙调蛋白为哑铃形状，两个球状末端由一个长长的柔性的 α 螺旋连接。每一末端具有两个 Ca^{2+} 结合域；(B)这个结构的简图表示，当钙调蛋白和靶蛋白结合时，Ca^{2+}/钙调蛋白构象发生改变。注意 α 螺旋像大折刀弯折着围绕靶蛋白(视频 16.5)。(A 根据 Y. S. Babu et al.，*Nature* 315:37-40，1985。获得来自 Macmillan Publishers 有限公司的准许。B 根据 W. E. Meador，A. R. Means and F. A. Quiocho，*Science* 257：1251-1255，1992 以及 M. Ikura et al.，*Science* 256：632－638，1992。获得 AAAS 的准许)

尽管传递此信号需要经过细胞内好几个级联反应步骤，但是这个速度仍能实现。此外，光感受器还极好地说明了信号级联反应的实在优点，尤其在它们能达到的惊人的放大作用方面，以及它们作为信号强度变化很大的信号检测器的适应性方面。目前对眼中视杆细胞的定量细节已做了最彻底的分析，它对弱光下的非彩色视觉起作用(图 16-28)。在该细胞中，光被一种 G 蛋白偶联光受体视紫红质所感应。光活化的视紫红质激活一个称作转导蛋白的 G 蛋白，激活的转导蛋白的 α 亚基于是活化细胞内的信号级联反应，导致感光细胞质膜中的离子通道关闭。这一过程产生跨膜电压的变化，改变了神经递质的释放并且最终结果是把一个神经脉冲输送到脑。

当信号沿着这条胞内信号通路传递下去时，信号重复地被放大(图 16-29)。当光照暗淡时，如在一个无月之夜，其放大效应是巨大的：整个视网膜吸收少至一打(12 个)的光子，即可引起一个可察觉的信号被传送到脑。在明亮的阳光下，光子洪流以每秒数十亿个的速率抵达每一个感光细胞，信号的级联反应适应这种情况，放大作用降低到万分之一以下，使感光细胞不崩溃，仍能探测到强光的增强和减弱。这种适应性取决于负反馈效应：感光细胞中的一个强反应产生一个细胞内信号(改变 Ca^{2+} 浓度)，抑制负责信号放大的酶。

适应作用也发生在对化学信号反应的信号通路中，以使细胞能在刺激本底值范围很宽的情况下，保持对信号强度变化的敏感性。换句话说，适应作用使得细胞既能对窃窃耳语般的信息做出反应，又能对大声吵嚷般的信息做出反应。

不仅视觉，而且味觉和嗅觉都依赖于 G 蛋白偶联受体。似乎有可能，真核细胞在进化早期所创建的信号接受机制起源于细胞基本而又普遍的需求，即感受环境并做出反应。当然，G 蛋白偶联受体并不是唯一的可以激活胞内信号级联反应的受体。我们现在转向另一类重要的细胞表面受体，酶联受体。这类受体在控制多细胞动物的细胞数目、细胞分化和细胞的移动中扮演了重要的角色。

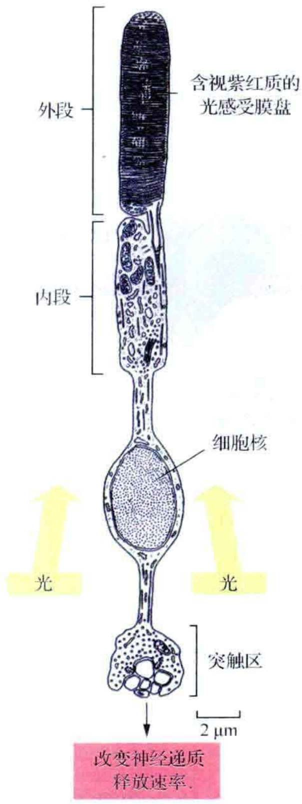


图 16-28 **视网膜的视杆感光细胞对光线剧烈的敏感。**该图描绘了一个视杆细胞。吸收光的视紫红质分子位于细胞外端内许多薄烤饼状的膜小泡（盘）中；神经递质从细胞另一端释放，以控制那些把信号传递到脑的视网膜神经细胞的触发。当视杆细胞受光刺激时，膜盘里的视紫红质将信号经细胞外端的胞质溶胶传至细胞外端质膜上的离子通道。对此信号的反应导致离子通道关闭，产生视杆细胞膜电位的改变。以与通常神经细胞控制神经递质释放相类似的机制，视杆细胞膜电位的变化使细胞突触区的神经递质释放速率发生改变。（引自 T. L. Lentz, Cell Fine Structure. Philadelphia: Saunders, 1971。获得 Elsevier 的准许）

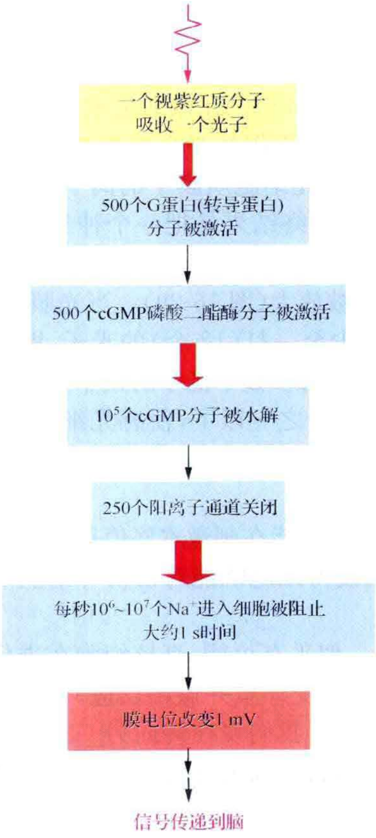


图 16-29 **在视杆细胞中光诱发的信号级联极大地放大光信号。**当光感受器适应于暗淡的光线时，这种放大作用是巨大的。G 蛋白转导的细胞内信号通路使用不同于已叙述过的组分。级联反应的功能如下：在光信号缺失的情况下，小信使分子 cGMP 在感光细胞中通过鸟苷酸环化酶不断产生（图 16-11C）。cGMP 然后结合到感光细胞质膜的阳离子通道上，使通道一直打开。通过光激活视紫红质，引起转导蛋白 α 亚基的激活。α 亚基再激活环核苷酸磷酸二酯酶，此酶分解 cGMP 为 GMP（非常类似于 cAMP 磷酸二酯酶分解 cAMP；图 16-21）。细胞内 cGMP 水平的急剧下降，引起已结合的 cGMP 从离子通道上解离下来，致使离子通道关闭。红色箭头表示放大作用发生在这些阶段，箭头的厚度粗略的指示了放大的强度。

16.3 酶联受体

和 G 蛋白偶联受体一样，**酶联受体**也是跨膜蛋白，在质膜的表面具有配体结合域。然而，和 G 蛋白结合受体不同的是它的胞质域，它可以起一个酶的作用，或者与另一个起酶作用的蛋白形成一个复合物。酶联受体(图 16-15C)的发现是因为它们对胞外信号蛋白("生长因子")反应中的作用。生长因子调节动物组织内细胞生长、增殖、分化和存活(部分例子见表 16-1)。大部分生长因子作为局部介质，只需很低的浓度($10^{-11}\sim10^{-9}$ mol/L)。细胞对于生长因子的反应特别慢(大约几小时)，需要许多细胞内信号转导步骤，最终导致基因表达的变化。

酶联受体也介导对细胞骨架直接而又快速的重新构象，控制了细胞改变其形状和迁移的方式。这些建筑性改变的胞外信号常常不是扩散性的信号蛋白，而是附着在表面上的一些蛋白，细胞在这种表面上爬行。细胞生长、增殖、分化、存活和迁移的失调是癌症的根本，酶联受体的信号传递不正常对引起这类疾病起重要作用。

最大的一类酶联受体是胞质域具有酪氨酸蛋白激酶功能的受体，它们磷酸化选定的胞内蛋白上的酪氨酸侧链。这类受体叫作**受体酪氨酸激酶(RTK)**，我们将在这里集中讨论这类受体。这里注意一下，我们目前所提到过的所有其他蛋白激酶，包括了蛋白激酶 A、蛋白激酶 C 和 CaM 激酶都是丝氨酸/苏氨酸激酶。

16.3.1 激活的受体酪氨酸激酶招募一个胞内信号蛋白复合物

酶联受体作为一个信号转导器，为了完成它的任务，当一个细胞外信号分子和受体的胞外域结合后，它必须去开启受体胞内域的酶活性(或是关联酶的)。和七次跨膜的 G 蛋白偶联受体不同，酶联受体蛋白通常只由单个 α 螺旋构成跨越脂双层的跨膜部分。单个的 α 螺旋似乎不可能去传递一个构象的改变，所以酶联受体具有不同的转导细胞外信号的机制。多数情况下，信号分子和受体的结合引起两个膜受体分子在膜中集合在一起，形成一个二聚体。两个相邻受体的细胞内尾部之间的接触，激活它们的激酶功能，其结果是两个受体相互磷酸化。在受体酪氨酸激酶中，磷酸化是发生在受体胞质溶胶尾巴上特定的酪氨酸上的。

酪氨酸的磷酸化然后触发了位于受体尾部一个精致的胞内信号复合物的组装。刚刚磷酸化的酪氨酸作为一整群细胞内信号蛋白的结合部位，而胞内信号蛋白也许可有 10 或 20 种不同的分子(图 16-30)。这些蛋白的一部分被磷酸化激活后与受体结合，再把信号传播下去；其他的作用仅仅是适配器，将受体同其他的信号蛋白相偶联，因此帮助建立活化的信号转导复合体。所有这些胞内信号转导蛋白具有一个特殊相互作用结构域，可以识别特异的磷酸化酪氨酸。相同的蛋白结构域允许胞内信号蛋白识别磷酸化的脂，后者是响应特定信号时在膜上产生的，我们随后将会讨论。

当蛋白复合体汇聚在受体酪氨酸激酶胞质溶胶内的尾巴上并维持该状态，它可以同时沿几条路径向胞内的许多目的地传递信号，于是激活与协调许多生物化学变化。这些生物化学的变化是启动复杂的反应所需要的，如细胞的增殖。为了终止响应，细胞通过蛋白酪氨酸磷酸酶去除在对细胞外信号反应时由受体酪氨酸激酶和其他信号转导蛋白所加上的磷酸基团，酪氨酸的磷酸化被逆转了。在许多情况下，激活的受体酪氨酸激酶受体(以及 G 蛋白偶联受体)以更剧烈的方式被消除：它们通过胞吞作用被带入细胞内，随后在溶酶体内经消化而被破坏。

不同的受体酪氨酸激酶招募细胞内不同信号蛋白的集合，产生不同的效应；但似乎也存在某些成分是被广泛采用的。比如磷脂酶 C，它采用像 G 蛋白偶联受体激活磷脂酶 C 那样的方式激活肌醇磷脂信号途径，前面有所讨论(图 16-25)。另一种胞内信号蛋白几乎被所有的受体酪氨酸激酶所激活，它是一种小的 GTP 结合蛋白，叫作 Ras。

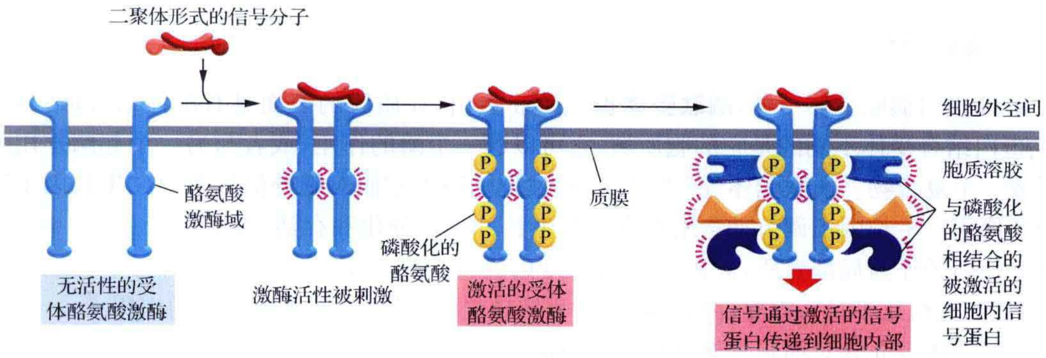


图 16-30　一个受体酪氨酸激酶的激活促使形成一个细胞内信号复合物。具有代表性的现象是信号分子和受体酪氨酸激酶细胞外域结合可引起两个受体分子结合为一个二聚物。这里表示的信号分子本身是一个二聚物，因此能与两个受体分子交联。在其他情况下，信号分子的结合以二聚化的方式改变受体分子的构象。二聚物的形成导致每个受体分子的细胞内尾部相互接触，这就激活了激酶，使它们磷酸化相邻尾巴上的多个酪氨酸位点。每一个磷酸化的酪氨酸作为细胞内不同信号蛋白的特定结合部位，这些信号蛋白随后把信号传递到细胞内部。这些蛋白具有一个特殊相互作用域，本例中是 SH2 域。这些作用域识别并结合在激活的受体上或是其他胞内信号蛋白上的特殊磷酸化的酪氨酸上。

16.3.2　大多数受体酪氨酸激酶激活单体 GTP 酶 Ras

正如我们所见，激活的受体酪氨酸激酶招募很多种胞内信号蛋白并且形成大的信号传导复合体。在这些复合体中一个重要的组成部分是 **Ras**，它是一个小的 GTP 结合蛋白，束缚在质膜胞质面一侧的脂尾巴上。实际上所有的受体酪氨酸激酶激活 Ras，包括血小板衍生的生长因子（PDGF）受体，它介导伤口愈合部位细胞增殖；还有神经生长因子（NGF），它防止在发育中的神经系统的某神经细胞死亡。

Ras 蛋白是小 GTP 结合蛋白大家族的一员，常被叫作**单体 GTP 酶（monomeric GTPase）**，把它们同我们前面遇到的三聚 G 蛋白区分开来。Ras 和 G 蛋白 α 亚基相类似，在许多细胞信号通路中以大致相同的方式起分子开关的作用。Ras 在两个不同构象状态之间循环，当 Ras 和 GTP 结合时呈激活态，而当 Ras 和 GDP 结合时呈无活性态（图 16-14B）。当 Ras 和一个激活蛋白相互作用时促使它的 GDP 转变为 GTP，于是开启了 Ras 的激活态（图 16-31）。经过一段延迟以后，通过把它的 GTP 水解为 GDP，Ras 再次关闭（视频 16.6）。

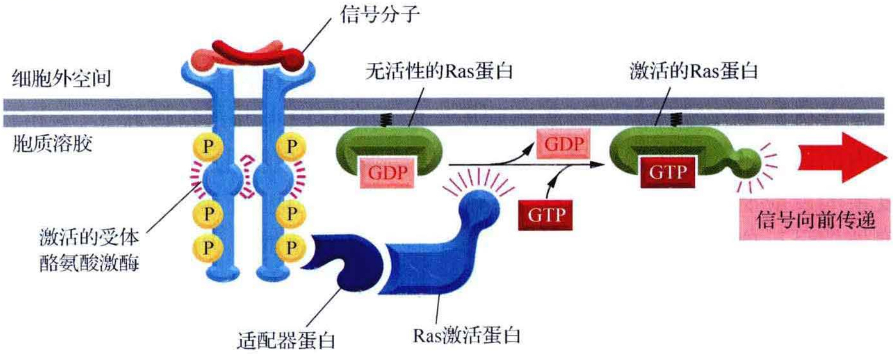


图 16-31　受体酪氨酸激酶激活 Ras。一个适配器蛋白驻留在活化受体上的一个特殊的磷酸酪氨酸上（为简化起见，略去了图 16-30 中的与受体结合的其他信号蛋白）。这个适配器招募一个起 Ras 激活蛋白作用的蛋白，从而刺激 Ras 把和它结合着的 GDP 改换成 GTP。激活的 Ras 蛋白然后刺激下游的信号传递途径，其中之一显示在图 16-32。需要注意的是 Ras 蛋白包含了一个共价连接的脂基团（黑色），该基团用于帮助把蛋白锚定在质膜上。

在 Ras 的激活态，它促进磷酸化的级联反应，在这一级联反应中，一系列丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶依次相互磷酸化和激活，如同一个胞内的多米诺骨牌(图 16-32)。此传递系统把信号从质膜传送到核。其间包括了一个三激酶蛋白组件叫作 **MAP 激酶信号组件**，此名字是为了向该传递链中的最后一个激酶表示敬意，即促分裂原活化蛋白激酶或是 **MAP 激酶**。(促分裂原是一种可以促进细胞增殖的胞外信号分子。)在该途径中，MAP 激酶被一种酶所磷酸化而激活，后者符合逻辑地被称为 MAP 激酶激酶。该蛋白本身又被 MAP 激酶激酶激酶(这个是被 Ras 激活)开启。MAP 激酶级联反应的最后，MAP 激酶磷酸化了多种效应蛋白，包括一些转录调控蛋白，改变它们调节基因转录的能力。这种基因表达模式的改变可以刺激细胞增殖，促进细胞存活或诱导细胞分化：精确的结果依赖于有哪些其他基因在细胞内处于激活状态和有哪些另外的信号被细胞所接受。生物学家是如何解释阐明如此复杂的信号转导途径的，将在**"我们如何得知"**中讨论。

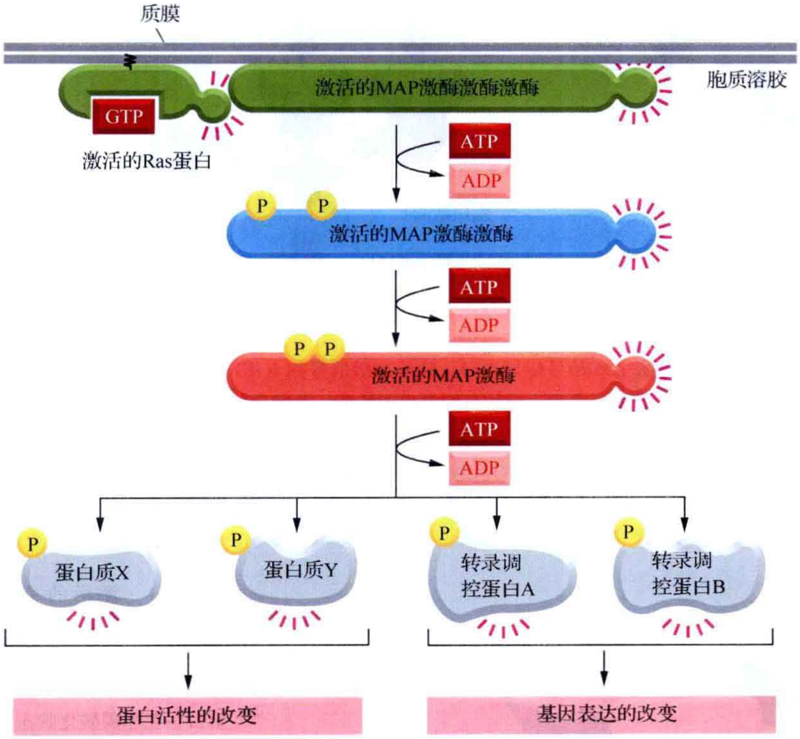


图 16-32 Ras 激活一个 MAP 激酶信号组件。由图 16-31 所显示的过程激活的 Ras 蛋白触发传递信号的三激酶信号组件。组件中最后一个激酶 MAP 激酶磷酸化不同的下游信号通路和效应蛋白。这些包括其他蛋白激酶，最重要的是控制基因表达的转录调控蛋白。基因表达和蛋白活性的改变引起细胞行为的复杂变化，诸如细胞增殖和细胞分化。

Ras 的重要性已经被多种方法所证明。比如，如果往细胞内注入使 Ras 失活的抗体抑制 Ras，细胞对通常能引起反应的胞外信号便不再产生正常的反应。反之，如果在一些细胞中 Ras 活性永久性地开启，细胞的表现就如同一直被刺激增殖的胞外促分裂原所轰炸(第 18 章中有讨论)。在正常细胞中发现 Ras 之前，它的一个突变形式已在人类癌细胞中发现：突变导致 Ras 的 GTPase 活性被抑制，蛋白无法自我关闭，促使了不受控制的细胞增殖以及癌的发生。大约有 30%的人体癌症存在这种 *Ras* 基因的突变。而在许多其他非 Ras 蛋白突变的癌细胞中，存在着许多基因的突变的产物，它们作用在与 Ras 同样的信号通路中。编码这些胞内信号蛋白的许多基因最初是在寻找促癌的癌基因的研究中被鉴定出来的，在第 20 章中将会讨论。

16.3.3 受体酪氨酸激酶激活磷酸肌醇 3 激酶产生质膜中的脂停泊位点

许多胞外信号蛋白都是通过受体酪氨酸激酶来刺激动物细胞的存活、生长和增殖的。它们

包括一类属于胰岛素样生长因子(IGF)家族的信号蛋白。有一个由受体酪氨酸激酶激活,并用于促进细胞生长和存活的重要的信号转导途径,依赖于**磷酸肌醇 3 激酶(PI 3 激酶)**,该酶磷酸化质膜上的肌醇磷酸酯。这些磷酸酯变成特异的胞内信号蛋白的停泊位点,蛋白自胞质溶胶重新定位到质膜上,就可以激活其他蛋白。

这些重新定位的信号蛋白中最重要的一员是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 Akt,又被叫作蛋白激酶 B 或者 PKB(图 16-33)。Akt 促使许多细胞类型的生长和生存,常常是通过抑制它所磷酸化的信号蛋白来实现的。举例来说,Akt 磷酸化和抑制一种胞质蛋白叫作 Bad。Bad 在活化状态下通过非直接的激活一种细胞自杀程序程序性细胞死亡促使细胞杀死自己(第 18 章有所讨论)。Akt 将其磷酸化后,抑制了这一促细胞死亡的蛋白从而促细胞存活(图 16-34)。

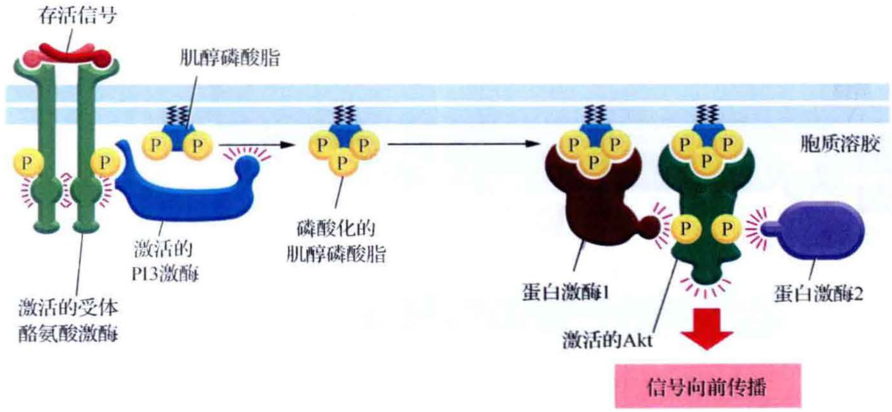


图 16-33 受体酪氨酸激酶可以激活 PI3 激酶-Akt 信号传导途径。胞外存活信号如 IGF,可以激活受体酪氨酸激酶,后者招募并激活 PI 3 激酶。PI 3 激酶再磷酸化膜结合的肌醇磷酸酯。磷酸化的肌醇磷酸酯吸引带有识别肌醇磷酸酯的特殊结构域的胞内信号蛋白。这些信号蛋白中的一种就是 Akt。Akt 是一种蛋白激酶,通过其他两种蛋白激酶(这里叫作蛋白激酶 1 和 2)介导的磷酸化在膜上被激活。蛋白激酶 1 同样是通过磷酸化的脂停泊位点被招募的。一旦激活,Akt 从质膜上被释放出来,在特定的丝氨酸和苏氨酸位点磷酸化各种下游蛋白(未显示)。

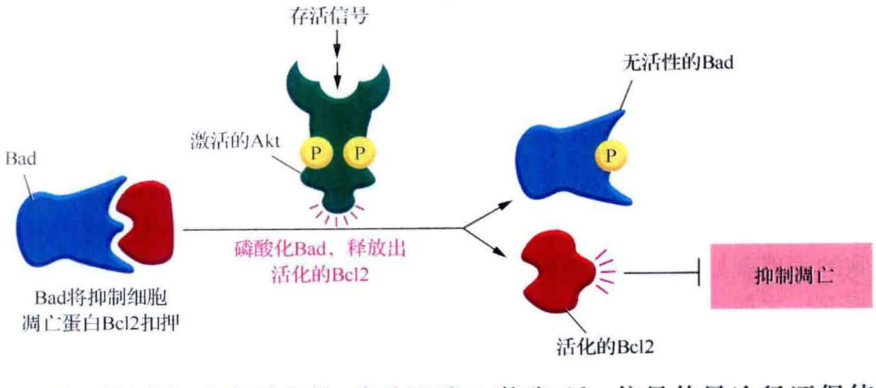


图 16-34 激活的 Akt 促进细胞存活。这样做的一种方式是通过磷酸化和抑制一种叫 Bad 的蛋白。在非磷酸化状态,Bad 通过结合和抑制 Bcl2 蛋白促进程序性细胞死亡,Bcl2 本来是抑制细胞凋亡的。当 Bad 被 Akt 磷酸化后,Bad 释放 Bcl2,抑制了凋亡,从而促进了细胞的存活。

除了促进细胞存活之外,磷酸肌醇 3 激酶-Akt 信号传导途径还促使细胞的体积增大。它这样做是通过非直接的激活一个大的丝氨酸/酪氨酸激酶 Tor。Tor 刺激细胞的增长既通过增强蛋白的合成又通过抑制蛋白的降解(图 16-35)。抗癌药物雷帕霉素就是通过抑制 Tor 来作用的。它加强了在调控细胞生长和存活中起重要作用的磷酸肌醇 3 激酶-Akt 信号传导途径。

图 16-35 **Akt 通过激活 Tor 刺激细胞生长。** 受体酪氨酸激酶结合一个生长因子激活了 PI 3 激酶-Akt 信号转导途径（如图 16-33 所示）。Akt 然后非直接的激活 Tor（通过磷酸化而抑制一种帮助保持 Tor 关闭的蛋白，此处未显示）。Tor 本身是一种丝氨酸/苏氨酸激酶，刺激蛋白合成并抑制蛋白降解（通过磷酸化这些进程中的关键蛋白，此处未显示）。抗肿瘤药物雷帕霉素就是通过抑制 Tor 来降低细胞生长和增殖的。事实上，Tor 蛋白被如此命名正是因为它是雷帕霉素的靶点（target of rapamycin）。

我们如何得知：解析细胞信号通路

胞内信号通路从来不是通过一个实验就能描绘出来的。相反地，研究人员是一点一点地弄清楚，链条当中的所有连接是如何组合在一起的，以及每一个连接对细胞响应诸如胰岛素等的胞外信号有什么贡献。该进程涉及将宽泛的细胞如何响应信号的问题分解为更细小的更容易处理的问题上。哪一个蛋白是胰岛素的受体？当胰岛素存在的时候是哪种胞内蛋白变得有活性了？这些激活的蛋白又是和哪些蛋白相互作用的？一种蛋白是如何激活另一种的？这里，我们将讨论有助于提供这些谜题答案的各种实验。

激活的磷酸化

当信号暴露于一个胞外信号分子时，一个结果就是多种蛋白被磷酸化。其中的一些将成为胞内信号蛋白负责将信息传播开去；另一些成为效应蛋白负责细胞的响应。为了知道哪些分子通过磷酸化被激活了，研究人员破碎细胞，将蛋白通过凝胶按照大小分开（在第 4 章讨论，图版 4-4～图版 4-6），然后使用抗体来检测磷酸化的蛋白。

另一种普遍用于观察新近磷酸化的蛋白的方法是当细胞处于一种胞外信号分子时，向细胞提供放射性的 ATP。信号激活的蛋白激酶将会转移标记的 ATP 上的放射性磷酸基到它们的蛋白底物上。还是将细胞蛋白在凝胶上分离，但是这次放射标记的蛋白可以通过将凝胶暴露于 X 射线胶片上而检测出来。

亲密的相遇者

一旦激活的蛋白被鉴定出来，我们就可以知道哪些蛋白和它们作用。为了鉴定相互作用蛋白，科学家常常使用免疫共沉淀。这个技术中，抗体用来抓住特异的蛋白，将蛋白从溶液中拖到试管的底部（在第 4 章讨论，图版 4-3）。如果抓住的蛋白正巧与其他的蛋白结合，那它们同样会被抓下来。通过这种方式，研究人员可以鉴定出当胞外信号分子刺激细胞时是哪些蛋白相互作用的。

一旦知道两个蛋白是相互结合的，研究人员可以继续探测出蛋白上面的哪个部分对相互作用是必需的。这就常常需要应用到重组 DNA 技术来构建一系列突变的蛋白，每一个都和正常蛋白有轻微的变化。比如，为了鉴定出某一胞内信号蛋白结合在受体酪氨酸激酶上的哪一个磷酸化的酪氨酸位点上，就可使用一系列突变的受体，每一个都在自己的胞质域缺少了一个不同的酪氨酸（图 16-36）。通过这种方式，就可以鉴定出用来结合的特异的酪氨酸位点。相似的，可以鉴定出这个酪氨酸停泊位点是否对受体传递信号是必需的。

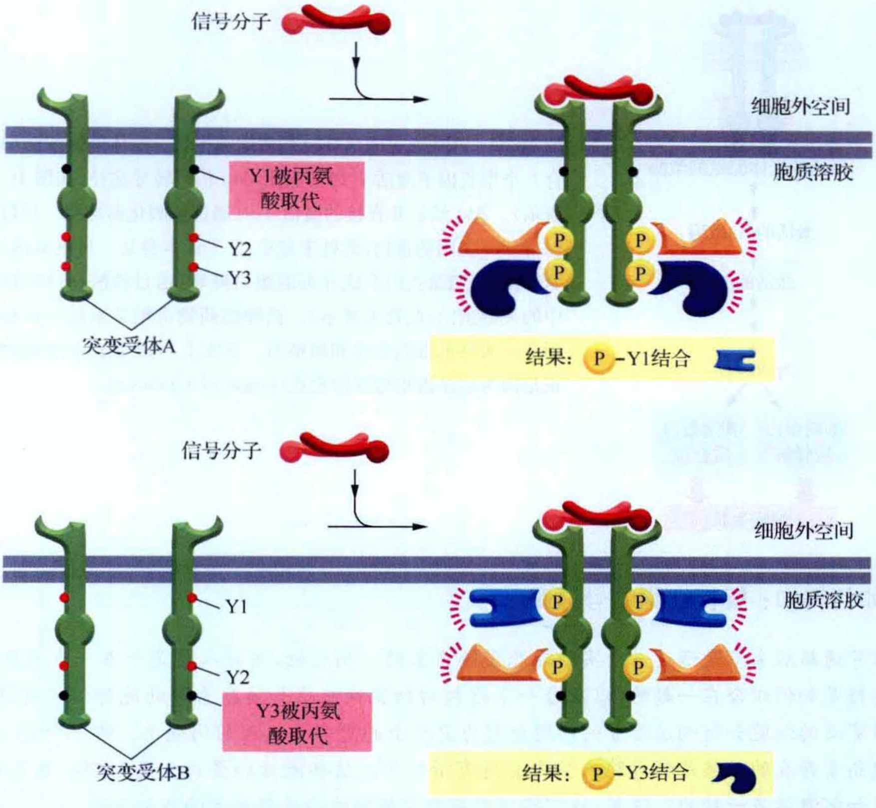


图 16-36　突变的蛋白可以帮助准确决定一个胞内信号分子结合在哪里。如图 16-30 所示，在结合到它们的胞外信号分子后，一对受体酪氨酸激酶彼此靠近分别磷酸化彼此胞质尾巴上特殊的酪氨酸位点。这些磷酸化的酪氨酸吸引不同的胞内信号蛋白，蛋白被激活从而将信号传递下去。为了知道是哪一个酪氨酸结合了特异的胞内信号蛋白，一系列突变的受体被构建。在所示的突变体中，单一酪氨酸(Y1 或是 Y3)被丙氨酸所取代。结果，突变的受体不再与图 16-30 所示的胞内信号蛋白的一种结合。细胞对信号响应的效果就可以得知。有一点很重要，就是在用突变受体来检测细胞的时候，细胞里面不能有自身的对信号分子响应的正常受体。

堵塞通路

最终，我们想要评估一个蛋白在信号传导进程中的重要性。第一个实验涉及使用重组 DNA 技术，将一个编码该蛋白持续活性形式的基因导入到细胞中，观察这是否模仿了胞外信号的效果。以 Ras 来举例。人类癌症中的一种 Ras 形式就是持续活性的，因为它丧失了水解 GTP 的能力，使得 Ras 持续激活。这一组成型活化形式的 Ras 甚至可以在诱导细胞分裂的分裂素不存在的情况下刺激一些细胞的增殖，从而促进癌症的发展(图 16-37)。

图 16-37　组成型激活形式的 Ras 即使在没有胞外信号分子的情况下仍传递信号。如图 16-31 所示，正常的 Ras 蛋白响应特定的胞外信号而被激活。这里显示的过度活跃形式的 Ras 失去了水解 GTP 的能力。因此它不能关闭自身的活性，所以是持续(组成型)活性的。

检测一个胞内蛋白在信号通路中的重要性的最终实验是将这个蛋白或是基因失活，来看信号通路是否受到影响。比如在Ras这个例子中，可以将Ras的一种"显性失活"(dominant-negative)突变体引入到细胞中。这个有缺陷的Ras因为同GDP黏得太紧以至于不能被激活。由于它仍然可以同该通路中的其他信号伙伴相结合，所以它堵住了这条通路，阻止了正常的Ras分子来干自己的活(这就是它被称为"显性"的缘故)。这种停滞的细胞将不会响应促有丝分裂原的刺激而增殖，提示了正常Ras信号通路在增殖响应中的重要性。另一种在细胞中抑制某种蛋白的方式是使用小干扰RNA(siRNA)，它降解编码蛋白的mRNA或是阻止mRNA翻译成为蛋白(图8-27)。

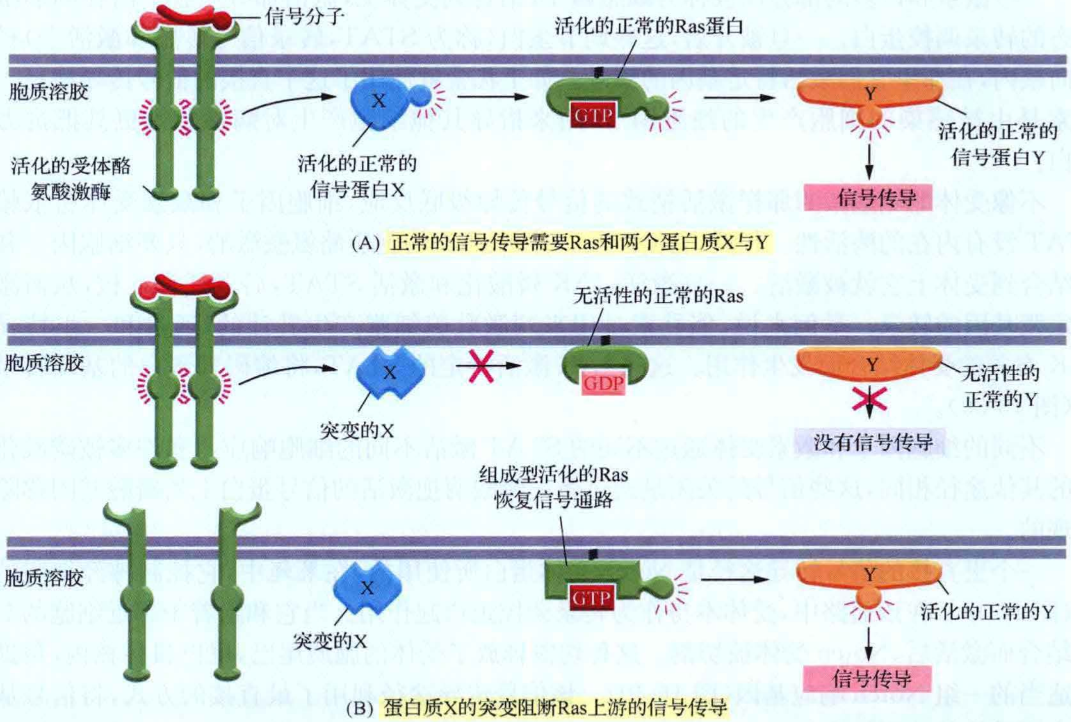
通路中的排序

大多数的信号转导通路都需要数十年来研究破译。尽管胰岛素早在20世纪20年代早期就从狗的胰脏中分离了出来，但连接胰岛素与它的受体结合到激活吸收葡萄糖的转运蛋白的各事件中的分子链仍然没有被完全理解。

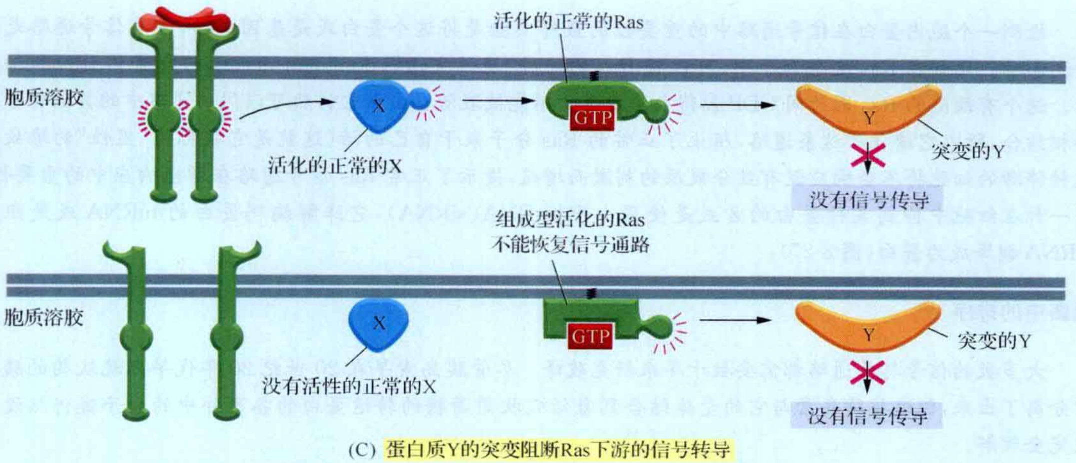
科学家用来鉴定参与细胞信号传导蛋白的一个重要策略就是在大量的动物中进行筛选。这往往意味着对成千上万的果蝇或是线虫用一种突变原处理，然后寻找突变所在的信号转导通路中哪一个没有正常工作。果蝇和线虫十分有用是因为它们繁殖迅速并且可以在实验室中大量维持。通过检查足够多的突变动物，在一个信号通路中的许多编码蛋白的基因被鉴定了出来，包括受体、蛋白激酶和转录调控蛋白等。

这种基因筛选同样有助于了解在通路中作用的胞内信号蛋白的顺序。设想在一次筛选中在Ras信号通路中找到了两种新蛋白X和Y。作为一种实验假说，设想受体先激活了X，X再激活Ras，Ras再激活了Y(图16-38A)。为了证明这种猜测，可以引入一种失活的X或Y的突变形式到细胞中，然后观察是否突变可以通过加入组成型活化形式的Ras而被"拯救"。如果组成型活化形式的Ras可以使得由突变蛋白造成的堵塞缓解，那么Ras一定在通路中该蛋白的下游(图16-38B)。如果Ras工作在通路中该蛋白的上游，一个组成型活化形式的Ras是不可能将信号传递下去，穿越由失活蛋白所造成的障碍的(图16-38C)。

联合使用这些生化和遗传技术，使得甚至最为复杂的胞内信号传导途径被剖析出来。



(B) 蛋白质X的突变阻断Ras上游的信号传导



(C) 蛋白质Y的突变阻断Ras下游的信号转导

图 16-38 遗传分析揭示了一条途径中胞内信号蛋白作用的顺序。一条信号传导途径可以通过突变其中的任何一种成分来抑制。这里，我们展示了一条假想的 Ras 信号传导途径(A)可以被蛋白 X(B)的突变或是蛋白 Y(C)的突变所抑制。加入组成型活化形式的 Ras 到这些细胞中可以帮助揭示突变蛋白在途径中的何处。加入组成型活化的 Ras 到有 X 突变的细胞中可以恢复这条通路，允许细胞即使在没有胞外信号分子的情况下传递信号(B)。过度活跃的 Ras 可以拯救这些细胞是因为 Ras 在突变蛋白 X 的下游，正是因为 X 堵塞了这条通路。相反地，把组成型活化的 Ras 加入到有 Y 蛋白突变的细胞中则不能拯救这些细胞，因为 Ras 在堵塞处的上游(C)。

16.3.4 有些受体激活一条到核的快速通道

不是所有的酶联受体激活复杂的信号级联都需要一系列蛋白激酶协调传递信息到核内。一些受体利用更为直接的途径来控制基因的表达。

一些激素和许多局部介质被称为**细胞因子**，结合到受体上，激活那些质膜上潜在的非激活状态的转录调控蛋白。一旦被开启，这些调节蛋白(称为 STAT，转录信号传感和激活子)径直奔向核内，在那里它们激活特定基因的转录。如干扰素就使用了这个直接的信号传导途径。干扰素是由被感染的细胞产生的细胞因子，用来指导其他细胞产生对病毒感染更具抵抗力的蛋白。

不像受体酪氨酸激酶那样激活精致的信号传导级联反应，细胞因子和激素受体所依赖的 STAT 没有内在的酶活性。相反，它们涉及一种叫 JAK 的胞质酪氨酸激酶，只要细胞因子和激素结合到受体上它就被激活。一旦激活，JAK 磷酸化和激活 STAT，后者迁移入核，从而激活特定靶基因的转录。举例来说，催乳素是用来刺激乳腺细胞产生乳汁的，通过和一组特异的 JAK 有关的受体结合而发生作用。这些 JAK 激活特定的 STAT，将编码乳蛋白的基因转录打开(图 16-39)。

不同的细胞因子和激素受体通过不同的 STAT 激活不同的细胞响应。和许多被磷酸化开启的其他途径相同，这些信号的关闭是通过蛋白磷酸酶把激活的信号蛋白上的磷酸基团移除而实现的。

一个更直接的信号转导途径是 Notch 受体蛋白所使用的，在果蝇中，它控制神经细胞的发育(图 16-4)。在该通路中，受体本身作为转录调控蛋白起作用。当它和附着于邻近细胞的 Delta 结合而激活后，Notch 受体被切割。这种切割释放了受体的胞质尾巴，尾巴目标核内，帮助激活适当的一组 Notch 响应基因(图 16-40)。该信号传导途径利用了最直接的方式，将信号从细胞表面受体传达到核内。

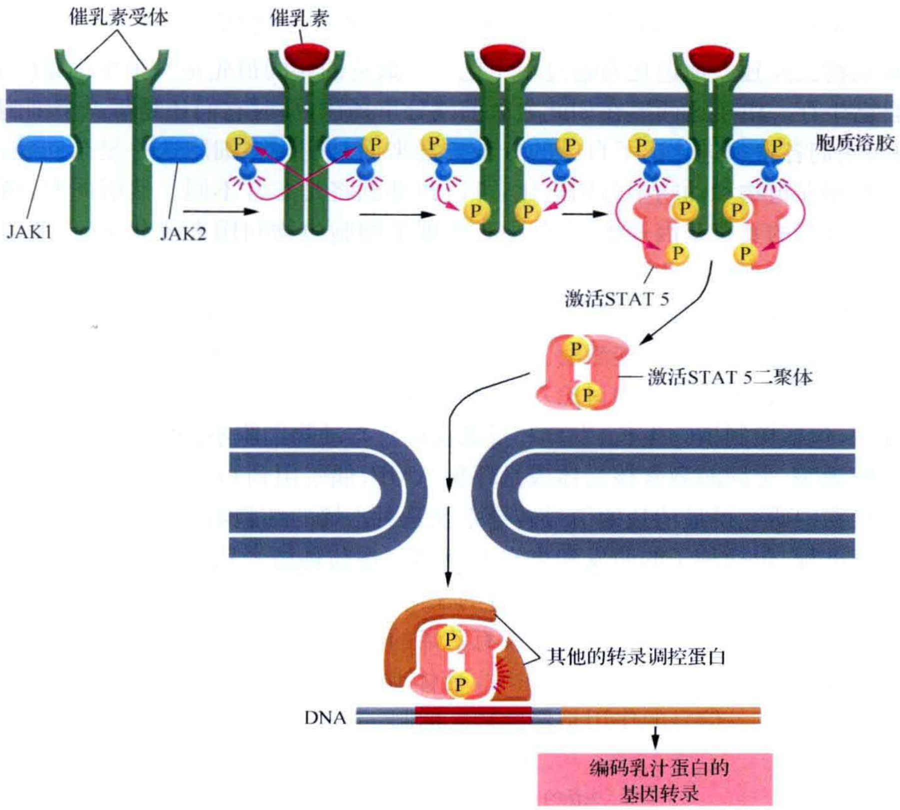


图 16-39 激素催乳素通过激活 JAK-STAT 信号通路刺激乳汁的产生。酶联受体和催乳素的结合导致结合的酪氨酸激酶(这里是 JAK1 和 JAK2)相互磷酸化并互相激活。激活的 JAK 然后磷酸化受体蛋白。称作 STAT 的转录调控蛋白(这里是 STAT5)存在于胞质溶胶中,接着结合到受体的磷酸酪氨酸上,同时 JAK 也磷酸化并激活这些蛋白。激活的 STAT 然后从受体蛋白上解离下来,二聚化,迁移到核内。在那里,凭借其他转录调控蛋白的帮助,它们激活编码乳汁蛋白的基因的转录。

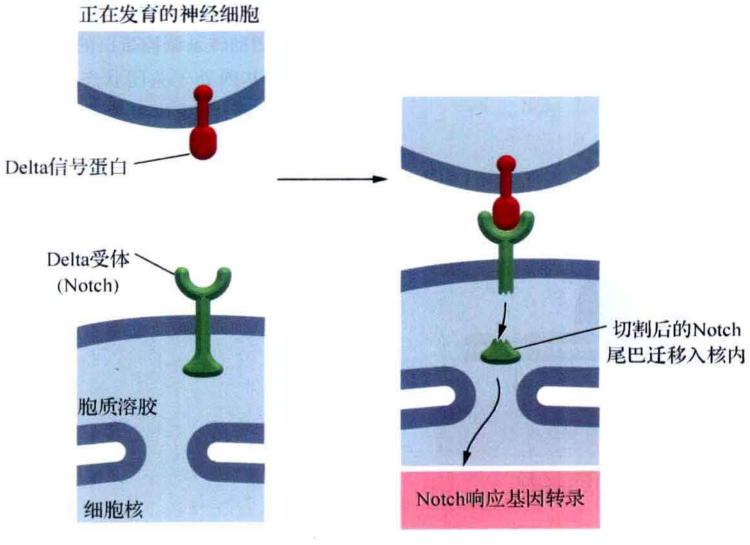


图 16-40 Notch 受体本身就是一个转录调控蛋白。当膜结合信号蛋白 Delta 与邻近细胞上它的受体 Notch 结合,受体就被切割。释放出来的 Notch 胞质尾巴部分就迁移进入核内,在那里激活 Notch 响应基因。这个信号传导进程的一种结果在图 16-4 中展示。

16.3.5 多细胞性和细胞通讯在植物和动物中独立地进化

植物和动物已经独立地进化着超过了十亿年。最近的共同祖先是一个单细胞的真核生物，它多半靠自己生存。由于这两界在如此之久前就分道扬镳，那时它们还是每一个细胞独立生存的状态，因而它们各自都进化出了自己的分子方案来面对变为多细胞这一复杂问题。因此，细胞间通讯的机制在植物和动物中分别进化，可以预期到将是非常不同。然而同时，植物和动物又都是由一组共同的真核基因开始的，其中有些被单细胞生物间用来彼此交流，所以动植物的信号转导系统应该表现出一些相似点。

同动物一样，植物广泛的利用细胞表面跨膜受体，特别是酶联受体。拟南芥(图 1-33)有数百个基因编码受体丝氨酸/苏氨酸激酶。然而，它们和动物细胞中发现的受体丝氨酸/苏氨酸激酶结构上迥异(我们将不在本章中讨论)。植物受体被认为在广泛多样的细胞信号传导过程中起到重要作用，包括控制植物生长、发育和抵御疾病。与动物细胞不同的是，植物细胞似乎不使用受体酪氨酸激酶、类固醇激素核受体或是环化 AMP，偶尔用到 G 蛋白偶联受体。

一个在植物中研究得最清楚的信号转导系统是对乙烯的细胞响应。乙烯是一种气体激素，调控各种发育进程，包括种子的萌发和果实的成熟。番茄种植者用乙烯催熟果实，甚至在采摘后也可以。乙烯受体不属于我们目前讨论过的任何一种受体。它们是二聚跨膜蛋白，令人惊奇的是，受体空置的时候它们是激活的。在没有乙烯的时候，空受体激活蛋白激酶，最终效果是关闭了核内的乙烯响应基因。当乙烯存在时，受体和激酶是非活化的，乙烯响应基因被转录(图 16-41)。该策略——信号的作用是释放转录抑制——在植物中被广泛使用。

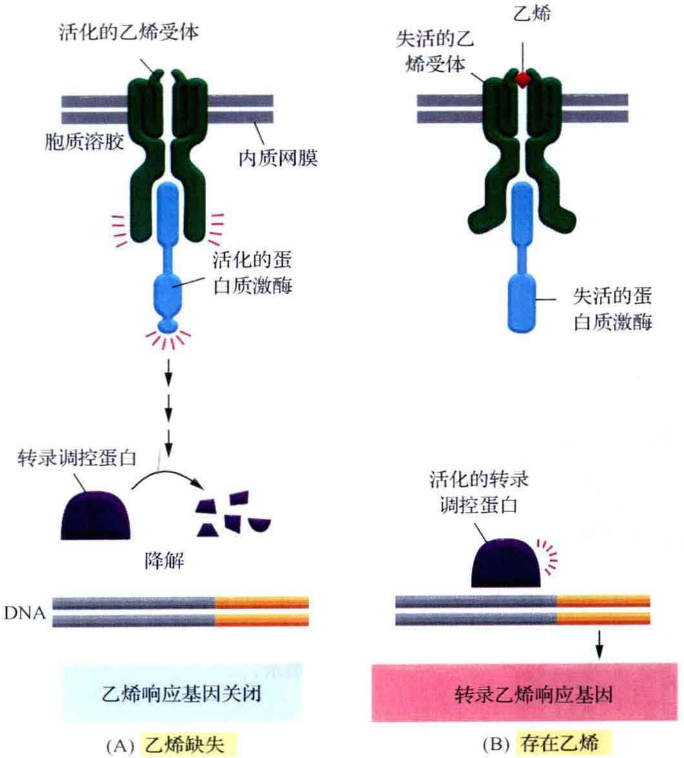


图 16-41 乙烯信号通路通过解除抑制来开启基因。(A) 在没有乙烯的时候，受体直接激活一种蛋白激酶，该激酶促进对启动乙烯响应基因的转录调控蛋白的销毁。因此后果就是基因处于关闭状态。(B) 在乙烯存在的情况下，受体和激酶都处于失活的状态，转录调控蛋白保存完好，随之激活乙烯响应基因的转录。与乙烯受体相互作用的激酶是一种丝氨酸/苏氨酸激酶，与动物中的 MAP 激酶激酶激酶密切相关(图 16-32)。

16.3.6 蛋白激酶网络整合信息来控制复杂的细胞行为

本章中，我们对将信号从细胞表面传递到细胞内部的许多途径进行了描绘。图 16-42 比较

了我们曾讨论得最详细的 5 条通路：G 蛋白偶联受体经腺苷酸环化酶和经磷脂酶 C 的信号通路，受体酪氨酸激酶经磷脂酶 C、经 Ras 和经磷酸肌醇-3-激酶的信号通路。每条信号通路都与其他的通路有所不同，又使用许多相同的成分来传递它们各自的信号。由于所有通路最后都激活蛋白激酶，似乎它们在原则上都能实际调节细胞的任何一个过程。

事实上，这个复杂性甚至大大超过我们迄今已有的论述。首先，存在着许多我们尚未讨论的其他胞内信号途径，尽管其中有许多对于正常发育至关重要，而在癌细胞中是被打乱的（图 20-49）。

也许更为重要的是，大部分的信号传导途径以我们尚未叙述过的方式相互作用。它们被许多种形式的相互作用所连接，但最广泛的是存在于每一途径中的蛋白激酶介导的相互作用。这些激酶常常通过磷酸化调节属于它们自己信号通路中的成分以及其他信号途径中的成分。于是不同信号通路间发生了一定量的相互沟通（图 16-42），而实际上发生在细胞所有控制系统之间。为了得到一个关于这种复杂性规模的概念，基因组测序的研究估计我们的近 2 万个蛋白质编码基因中有 2%的基因是编码蛋白激酶的；大约有上百种不同类别的蛋白激酶存在于单个哺乳动物的细胞中。我们如何能了解这种信号途径之间一团乱麻似的网络的意义？这种复杂性的作用又是什么？

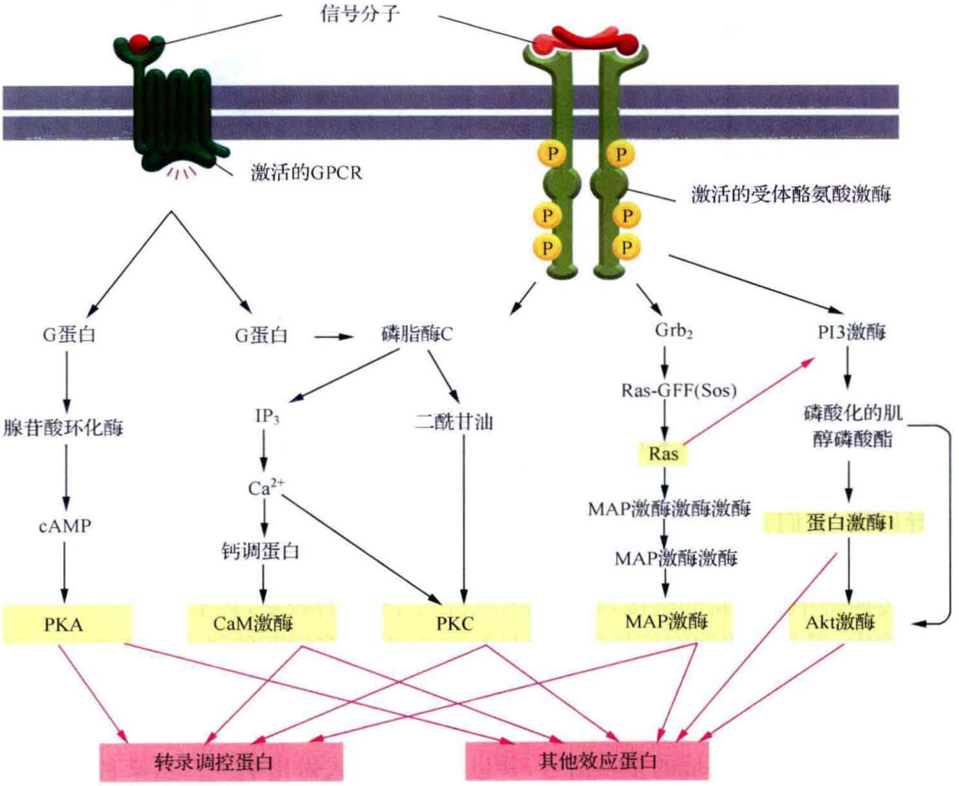


图 16-42 信号通路之间是高度互相连接的。如图所示简略描绘了来自 G 蛋白偶联受体的两条通路，一条途径腺苷酸环化酶，另一条途径磷脂酶 C；以及来自受体酪氨酸激酶的三条通路，途径磷脂酶 C、途径 Ras 和途径 PI3 激酶。这些通路中的蛋白激酶磷酸化很多蛋白，包括许多属于别的通路的蛋白。由此所产生的调节性相互联系的密集网络用红箭头表示，红箭头从黄色背景中的每个蛋白射出；一些激酶磷酸化一些相同的效应蛋白。一些小的胞内信使，诸如 Ca^{2+}，同样影响许多通路的活性。

细胞必须综合许多不同来源的信息并作出适当反应——生或死、分裂或是分化、改变形状、迁移、分泌化学物等(视频 16.7、16.8 和 16.9)。通过信号通路间的相互沟通,细胞能把多方面的信息归置在一起并对组合的信息做出反应。因此,某些胞内蛋白常由于具有一些潜在的磷酸化部位而被用作信号的整合装置,这些部位的每一个能被不同的蛋白激酶磷酸化。接收到的不同来源的信息因此能汇合在这些蛋白上,它们再把输入信号转换成单个输出的信号(图 16-43,图 16-13)。整合的蛋白接着能把一个信号递送给许多下游靶分子。通过这种方式,细胞内信号系统可以像脑的神经细胞网络或者像计算机的微处理器的网状系统,对复杂的信息作出解释并产生复杂的反应。

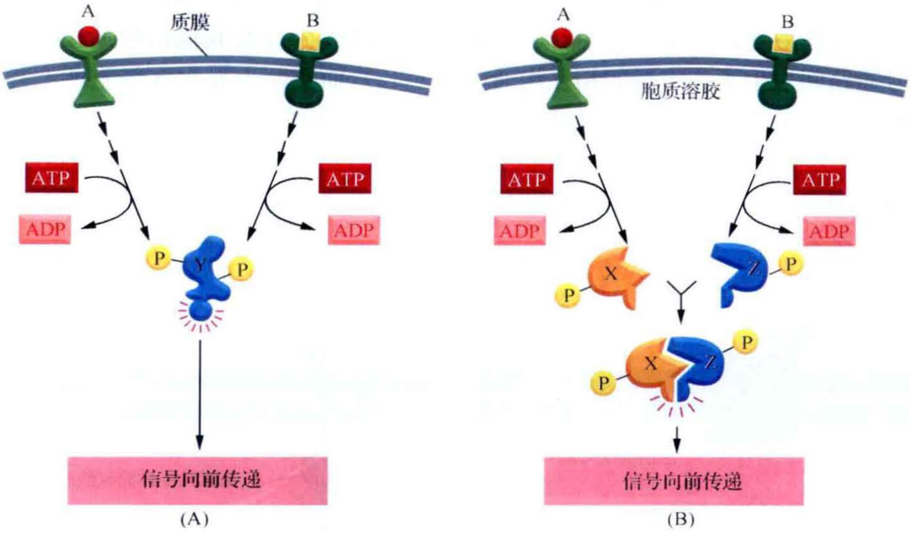


图 16-43 一些胞内蛋白的作用是整合外来信号。(A) 信号 A 与 B 激活不同的蛋白磷酸化级联反应,其中每一个都导致蛋白 Y 的磷酸化,但在蛋白 Y 的不同部位。当蛋白 Y 的两个部位都被磷酸化时,蛋白 Y 才能被激活。因此只有在 A 和 B 两个信号同时存在时蛋白 Y 才是有活性的。(B) 可供选择的另一种方式是,A 与 B 信号导致两个蛋白 X 与 Z 的磷酸化。两个磷酸化的蛋白相互结合,创建一个有活性的蛋白 XZ。

我们对细胞用于加工处理来自环境的信号时所采用的信号途径的探索,带领我们从细胞表面的受体,深入探究到细胞内部,深入到精致的细胞内控制系统的运作。我们已经检查了大量的信号传导网络,它们允许细胞组合和处理不同来源的输入信息、储藏信息、并且以一个合适的方式来响应信号从而使得生物体受益。但是我们对于这些错综复杂的网络的认识仍在进展中:我们仍然在传递链中发现新的链接,新的信号转导帮手,新的联系,甚至新的途径。

在动植物中,揭开这些细胞信号传导途径的面纱,是众多活跃的研究领域之一,每天都有新的发现。基因组测序工程一直对众多不同生物中的信号转导提供大量的候选成分。即便有一天我们鉴定出其中所有的成分,仍然存在着一个重大的挑战。即探究明白它们是如何相互配合从而使得细胞整合了来自环境的多种信号,并以合适的方式做出响应。从某种程度上说,研究细胞如何"思考"的问题,类似于我们作为人类,是如何思考的。举例来说,尽管我们知道神经递质是如何激活某个神经元的,以及神经元是如何彼此间交流的,但是我们对于一个根本的概念仍然无从知晓,即所有这些成分是如何作用在一起使得我们感知、交谈、大笑和尝试揭开这宇宙中地球上生命的自然造化。

基本概念

- 多细胞生物的细胞通过许多不同的细胞外化学信号进行通讯。
- 在动物中，激素经血液运载到远方的靶细胞，但大多数其他的细胞外信号分子往往仅作用于短距离。相邻细胞常通过直接的细胞表面接触进行通讯。
- 细胞外信号通过和受体蛋白结合并激活它产生对靶细胞的刺激。每一个受体识别一种特殊的信号分子。
- 小的疏水性细胞外信号分子如类固醇激素和一氧化氮，能直接跨质膜扩散；它们激活细胞内受体蛋白，这些细胞内受体蛋白或是转录调控蛋白，或是酶。
- 大部分细胞外信号分子不能通过细胞膜，它们和位于细胞表面的受体蛋白结合，将胞外信号转化（转导）成不同的胞内信号。
- 细胞表面受体有三大类：①离子通道偶联受体；②G蛋白偶联受体；③酶联受体。
- G蛋白偶联受体和酶联受体响应细胞外信号，激活胞内一条或数条信号通路，从而改变细胞行为。
- 关闭信号通路和开启它们同样重要。信号通路中每一个激活的成分都必须随后被抑制或是从通路中移去以备下次再用。
- G蛋白偶联受体激活一种三聚体状态的GTP结合蛋白，称为G蛋白。G蛋白起分子开关的作用，短时间内把信号向前传送到细胞内部，随后通过水解G蛋白结合的GTP为GDP而关闭它们自己。
- 某些G蛋白直接调节质膜中的离子通道。其他的G蛋白激活（或失活）腺苷酸环化酶，增加（或降低）细胞内小信使分子cAMP浓度。还有别的G蛋白直接激活磷脂酶C。磷脂酶C产生小信使分子肌醇三磷酸（IP3）和二酰甘油。
- IP3打开内质网膜上的Ca^{2+}通道，急速释放游离Ca^{2+}流涌入胞质溶胶。Ca^{2+}本身作为一个小的细胞内信使，使许多Ca^{2+}响应蛋白的活性发生改变，包括钙调蛋白。钙调蛋白激活各种靶蛋白诸如Ca^{2+}/钙调蛋白依赖的蛋白激酶（CaM激酶）。
- cAMP的增加激活蛋白激酶A（PKA），而Ca^{2+}和二酰甘油共同激活蛋白激酶C（PKC）。
- PKA、PKC和CaM激酶选择性地磷酸化靶蛋白的丝氨酸和苏氨酸，由此改变蛋白的活性。不同类型的细胞含有不同的信号组合和效应靶蛋白，因此以不同的方式受影响。
- 许多酶联受体具有起酶作用的胞内蛋白结构域。大部分是受体酪氨酸激酶（RTK），它们磷酸化自身并选定在酪氨酸上的胞内信号蛋白。
- RTK上的磷酸酪氨酸作为各种胞内信号蛋白的停泊位点，常常包括小型的GTP结合蛋白Ras。Ras激活一个三蛋白MAP激酶信号转导组件，帮助将信号从质膜传送到核。
- 通过造成Ras的持续活性而刺激细胞增殖的那些突变是许多人类癌症的共同特征。
- 一些RTK通过激活肌醇三磷酸激酶来刺激细胞的增殖和细胞的存活。肌醇三磷酸激酶磷酸化特定的肌醇磷酸酯来产生在质膜上的脂停泊位点，从而使得特定的信号蛋白聚集并激活其他蛋白。
- 一些受体，包括Notch和细胞因子受体，激活一条通往核的直接通路。与激活信号级联反应不同，受体活化了质膜上的转录调控蛋白。后者随后迁移到核内，激活特异的基因。
- 植物和动物一样，使用酶联细胞表面受体来控制它们的生长和发育。
- 植物中的胞外信号常常通过解除信号响应基因的转录抑制来起作用。
- 不同的细胞内信号通路的相互作用，使细胞能对复杂的信号组合产生适当反应。某些信号组合使细胞得以存活，另一些信号组合引起细胞增殖。当不存在任何信号时，大部分细胞会通过凋亡杀死它们自己。

关键词

- Ca^{2+}/钙调蛋白依赖的蛋白激酶(CaM 激酶)
- cAMP
- cAMP 依赖的蛋白激酶(PKA)
- GTP 结合蛋白
- G 蛋白
- G 蛋白偶联受体(GPCR)
- MAP 激酶
- MAP 激酶信号组件
- Ras
- 胞内信号分子
- 胞内信号途径
- 胞外信号分子
- 单体 GTPase
- 蛋白激酶
- 蛋白激酶 C(PKC)
- 蛋白磷酸酶
- 第二信使
- 二酰甘油(DAG)
- 分子开关
- 钙调蛋白
- 核受体
- 肌醇-1,4,5-三磷酸(IP_3)
- 肌醇磷脂
- 激素
- 局部介质
- 酪氨酸激酶
- 类固醇激素
- 离子通道偶联受体
- 磷酸肌醇 3 激酶(PI3 激酶)
- 磷脂酶 C
- 酶联受体
- 神经递质
- 适应性
- 受体,受体蛋白
- 受体酪胺酸激酶(RTK)
- 受体丝氨酸/苏氨酸激酶
- 丝氨酸/苏氨酸激酶
- 细胞信号传导
- 细胞因子
- 腺苷酸环化酶
- 小信使
- 信号转导
- 一氧化氮(NO)

问题

问题 16-1 为了维持一个局部刺激,务必防止旁分泌信号分子离它们的产生地太远。请提出达到这个目的的几种不同方式。解释你的答案。

胆固醇

问题 16-2 试想一下疏水性小分子胆固醇的结构,它的固醇分子骨架与图 16-9 所示的三个激素的相类似,但具有较少的极性基团如—OH、=O 和—COO^-。如果胆固醇不像正常情况那样存在于细胞膜,那么如果进化出一个合适的胞内受体的情况下,请问它能作为激素被有效地利用吗?

问题 16-3 原则上,一个胞内信号蛋白是如何在向前传递的时候将信号放大的?

问题 16-4 类固醇激素类型的核受体和离子通道偶联受体所应用的信号机制都很简单,并且参与成分也十分少。它们能导致起始信号的放大吗?如果是,如何放大起始信号?

问题 16-5 G 蛋白偶联受体是以降低 GDP 结合的强度来激活 G 蛋白的。这引起结合的 GDP 迅速解离,随后为胞质溶胶中浓度比 GDP 高得多的 GTP 所代替。G 蛋白 α 亚基的一个突变引起和 GDP 的亲和力降低,而不显著改变和 GTP 的亲和性,这将会引起什么后果?比较此突变的效应和霍乱毒素的效应。

问题 16-6 解释为什么为了进行快速的信号传递,必须在细胞内快速分解 cAMP?

问题 16-7 你认为为什么尽管细胞外 Ca^{2+} 通常是极为丰富的,细胞还是为了信号传导进化出细胞内的 Ca^{2+} 储存?

问题 16-8 任何信号级联反应的一个重要特征是其进行关闭的能力。考虑图 16-29 中所显示的级联反应,哪里会需要关闭开关?你认为哪几个是最重要的?

问题 16-9 你是否认为细胞接触抗 G 蛋白偶联受体的抗体和抗受体酪氨酸激酶的抗体会分别引起这两个受体的活化？（提示：复习图版 4-3，关于抗体分子的性质）

问题 16-10 如果在一些细胞表面受体中，包括细胞因子受体和 Notch，可以通过将质膜上的潜在转录调控蛋白激活而迅速将信号传递到核内，为什么大部分细胞表面受体还使用长长的间接信号转导级联来影响核内的基因转录？

问题 16-11 下列陈述哪些是正确的？解释你的回答。

A. 胞外信号分子乙酰胆碱对一个动物中的不同细胞有不同的效应，而且它常常和不同细胞上的不同受体分子相结合。

B. 乙酰胆碱由细胞分泌后，它是长寿的，因为它必须到达遍布全身的靶细胞。

C. GTP 结合的 α 亚基和无核苷酸的 βγ 复合物这两者，而不是 GDP 结合着的完全组装的 G 蛋白，能够激活 G 蛋白偶联受体的其他下游分子。

D. IP_3 是直接从肌醇磷脂衍生而产生的，没有另外的磷酸基团的掺入。

E. 钙调蛋白调节细胞内钙的浓度。

F. 来源于质膜的不同信号能通过细胞内不同信号途径间的相互作用而被整合。

G. 酪氨酸磷酸化构建其他蛋白质与受体酪氨酸激酶结合的结合部位。

问题 16-12 Ras 蛋白的功能起一种分子开关的作用，它通过由其他蛋白质让 GTP 与其结合并驱除已结合的 GDP 而处于激活态。一种 GTP 酶激活蛋白以比没有这种刺激时更快的方式把与 Ras 结合的 GTP 水解为 GDP，从而把开关再设置在关闭的状态。于是 Ras 的工作就像电灯的开关，一个人把它打开而另一人则把它关掉。给你一种突变细胞，它没有 GTP 酶激活蛋白，在 Ras 活性对胞外信号的反应方式中你预计会发现什么异常？

问题 16-13 A. 比较和对照神经细胞（在突触释放神经递质）和信号传递中的内分泌细胞（分泌激素到血液中）的异同。

B. 讨论两种机制的相关优点。

问题 16-14 两个细胞内分子，X 和 Y，以每个细胞每秒钟合成 1000 个分子的恒定速率进行着。X 分子降解缓慢，每个 X 分子平均能存活 100 s，而 Y 分子的降解速率是 X 分子降解速率的 10 倍，每个 Y 分子平均存活时间是 10 s。

A. 计算细胞任何时候含有多少 X 和 Y 分子？

B. 如果 X 和 Y 的合成速率都突然增加至 10 倍，达到每秒钟每个细胞 10 000 个分子，而它们的降解速率没有任何改变，1 s 以后有多少 X 和 Y 分子？

C. 哪一个分子更适合于快速的信号传递。

问题 16-15 从前，有一个高贵的国王统治着世界上最美丽的幅员辽阔的国土。每一棵植物都闪烁着翡翠般的光芒。柔和起伏的山峦像夏日大海波涛一样闪亮。国王所作出的一切决定，其智慧仰仗于信使们每天所提供的有关王国中具体情况的信息，这些信息从不中断。所以国王无论在什么时候，一旦需要，便能采取迅速而又适当的行动。尽管一切都那么美好和有效，但生活在他的统治之下，他的人民感到无望，因为国王的顾问曾经研究过“细胞信号传导”并据此来管理国王的情报部。国王的顾问实施着一种政策，即所有信使一旦被皇家卫队发现就得立即斩首，他认为用于快速信号传递的信使生命期应当是短暂的。信使们纷纷请求道：“不要加害于我，我仅仅是个信使！”但是完全没有用，王国的百姓苦难深重，因为很快地失去了他们的子女。为什么国王的顾问作此政策所依赖的类比是不当的？请简要讨论将细胞信号传递途径与上述故事中人类通讯途径区分开来的主要特征。

问题 16-16 在一系列实验中，人们把编码突变型受体酪氨酸激酶的基因导入细胞。这些突变基因被设计为比正常基因的表达高出许多，而细胞仍表达来自其正常受体基因的正常受体。什么会是导入下列突变受体酪氨酸激酶基因的后果：(A)缺少它的胞外域，或(B)缺少它的胞内域？

问题 16-17 讨论下面的论述：“当结合配体且这能在膜的另一边被感觉到时，多次跨膜蛋白能改变其构象。于是单个蛋白分子能传递一个跨膜信号。相反，各个单次跨膜蛋白不能把构象变化传递过膜，而需要寡聚化。”

问题 16-18 导致 G 蛋白激活的反应和导致 Ras 激活的反应之间的相同点和不同点是什么？

问题 16-19 为什么细胞利用 Ca^{2+}（通过钙泵使细胞内 Ca^{2+} 浓度保持在 10^{-7} mol/L）于细胞内信号传递，而不是另外的离子如 Na^{+}（通过钠泵使细胞内钠浓度保持在 10^{-3} mol/L）的？

问题 16-20 一个细胞如果有充足的营养支持，却没有其他细胞来的持续信号，就会自杀（图 16-6）。这似乎与你的直觉相反。你认为这种调节的目的可能是什么？

问题 16-21 肌细胞中的肌球蛋白/肌动蛋白系统的收缩是由胞内 Ca^{2+} 的增加来触发的。肌细胞具有特殊的 Ca^{2+} 释放通道——称作里阿诺碱（ryanodine）受体，因为它对药物里阿诺碱是敏感的。里阿诺碱受体位于肌质网——特殊形式的内质网——的膜中。和内质网中的 IP_3 门控 Ca^{2+} 通道相反（图 16-25），操纵里阿诺碱受体的配体是 Ca^{2+} 本身。讨论里阿诺碱通道对肌细胞收缩的重要性。

问题 16-22 两个蛋白激酶，K1 和 K2，在胞内信号级联反应中序贯地起作用。如果两个蛋白激酶中任何一个含有致其永久性无活性的突变，当细胞收到一个细胞外信号时，细胞无反应。另一个突变使 K1 永久激活，在含有那种突变的细胞中即使没有细胞外信号也可观察到响应。你描述一种双突变细胞，它含有带失活突变的 K2 和带激活突变的 K1。你观察到即使这些细胞没有接受到信号，还是有反应的。在正常信号传递途径中，是 K1 激活 K2 或是 K2 激活 K1？说明你的回答。

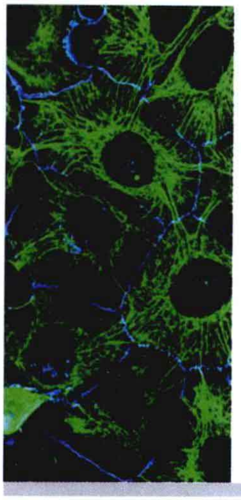
问题 16-23 A. 追踪一个自细胞表面受体到核内基因改变的长期而非直接的信号传导途径的各个步骤。

B. 将这条途径和两个自细胞表面到核内短暂而直接的途径相比较。

问题 16-24 在激活受体酪氨酸激酶后，磷酸肌醇 3 激酶是如何激活 Akt 激酶的。

问题 16-25 动物细胞和植物细胞有许多十分不同的胞内信号传导机制，但同时也分享许多相同的机制。为什么是这样呢？

（杨　科　译）



17

细胞骨架

17.1 中间丝
17.2 微管
17.3 肌动蛋白丝
17.4 肌肉收缩

真核细胞依赖**细胞骨架**形成各种不同的形状，组织胞内多种组分与环境相互作用并产生协调的运动。细胞骨架是一个由蛋白丝组成的错综复杂的网络，满布在整个胞质中(图 17-1)。在真核细胞中，这个纤维状的结构帮助支撑起细胞质巨大的体积。对于没有细胞壁的动物细胞来说，这一点尤为重要。尽管细菌也有一些细胞骨架的成分，但细胞骨架最主要存在于巨大且结构复杂的真核细胞中。

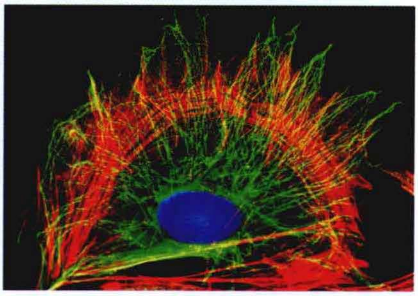


图 17-1 细胞骨架赋予细胞一定的形状，并使细胞组织起胞内组分。体外培养的动物细胞被标记后显示出两种主要的细胞骨架系统：微管(绿)和肌动蛋白丝(红)。细胞核内的 DNA 用蓝色标记。(本图蒙 Albert Tousson 惠许)

然而，细胞骨架不像我们身体内的骨头，它是一个高度动态的结构，在变换形状、细胞分裂或是环境应答时一刻不停地重组。细胞骨架不单单是细胞的"骨头"，还是它的"肌肉"，并且直接负责细胞的大幅度运动，例如，细胞沿物体表面的爬行、肌细胞的收缩以及胚胎发育时细胞形状的改变。没有细胞骨架，伤口无法愈合，肌肉毫无用处，精子也不能触及卵子。

就像一个制造复杂产品的工厂一样，真核细胞的内部是高度有序的，不同的"专业服务中心"位于胞内不同的部位，并且由运输系统相连(已在第 15 章讨论)。细胞骨架不但控制那些提供服务的细胞器的定位，也提供服务中心之间运输的机械。在有丝分裂时，细胞骨架还负责将染色体分给两个子细胞并收缩、拉开细胞，这些我们将在第 18 章加以说明。

细胞骨架建立在由三类蛋白丝组成的框架之上：中间丝、微管和肌动蛋白丝。正如图版 17-1 所描述的那样，每一类纤维具有特定的力学性质，并由不同的蛋白亚基形成。一个纤维蛋白家族组成了中间丝；微管蛋白是微管的亚基；而肌动蛋白是肌动蛋白丝的亚基。在每一种情况下，成千上万的亚基聚合形成一条不分叉的蛋白质长线，有时可横跨整个细胞。

在本章中，我们将依次了解这三类蛋白丝的结构与功能。我们从为细胞提供机械支撑的中

间丝开始，然后了解由微管组成的细胞附属物如何驱动可运动的细胞(如原生动物和精子)以及肌动蛋白这个细胞骨架如何为爬行的成纤维细胞提供动力。最后，我们将讨论细胞骨架如何驱动肌肉收缩这个研究最深入的最明显的细胞运动。

17.1 中间丝

中间丝有很强的抗拉强度，因而它们的主要功能就是使细胞在被牵伸时能经受住机械力的作用。它们最初在平滑肌细胞中被发现，由于它们的直径(约 10 nm)介于细的肌动蛋白丝和较粗的肌球蛋白丝之间，因此称为中间丝。在三类细胞骨架丝中，中间丝最为坚韧和耐久：当用高盐和非离子去垢剂处理细胞时，只有中间丝可以保留，其余大部分的细胞骨架都被破坏了。

在绝大多数动物细胞的胞质中都可以找到中间丝。它们很典型地形成布满在胞质中的网络，包围着细胞核，还延伸到细胞膜的周边。在那里，它们往往锚定在细胞膜上的细胞连接处(例如，细胞桥粒，详见第 20 章)，而该处的细胞膜外表面与另一细胞相连(图 17-2)。中间丝也在细胞核中分布，在所有的真核细胞中，位于核被膜之下并增加其强度的中间丝网络称为*核纤层*。在这一节中，我们将了解中间丝的结构和装配如何使它适合细胞的加固，以保护细胞免受机械压力。

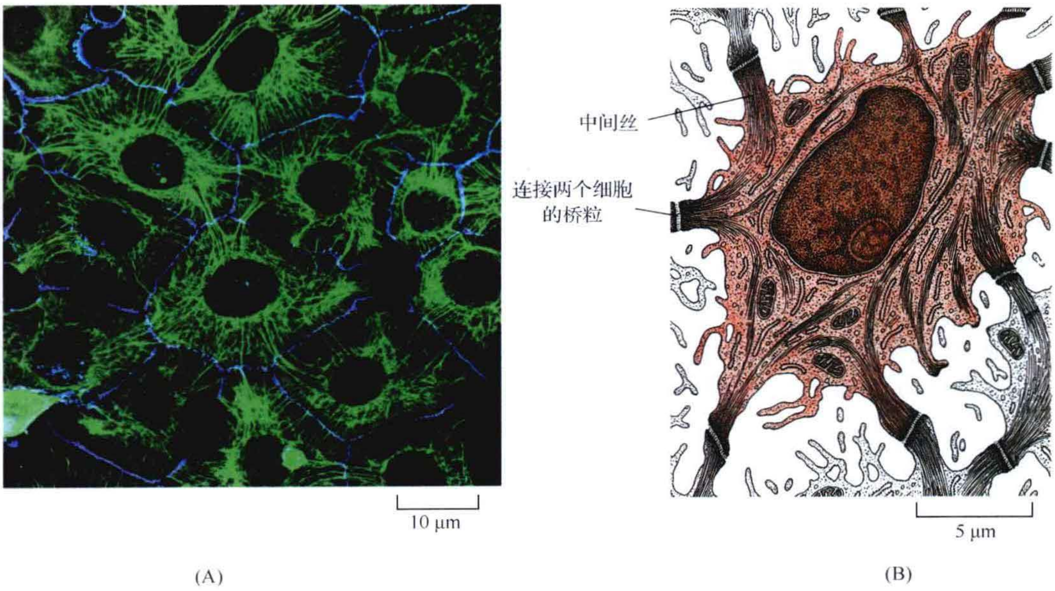


图 17-2 在细胞质中，中间丝形成一个坚固而持久的网络。(A) 一层体外培养的上皮细胞的免疫荧光图片显示网状的中间丝(绿色)包围了细胞核，并遍布在细胞质中。每一个细胞内的中间丝都通过桥粒(在第 20 章讨论)间接地与相邻细胞的中间丝相连接，从而在整个组织内细胞与细胞之间建立起一种持续的机械链接。这种机械链接加固了上皮细胞，使之形成组织腔内的一层连续的衬垫。第二种蛋白质(蓝色)染色后显示了细胞边界的位置；(B) 参考上皮细胞横切面的电镜照片而绘制成的图片。它显示中间丝纤维束横跨细胞质并插入到桥粒中。(图 A 蒙 Kathleen Green 和 Evangeline Amargo 惠许；图 B 引自 R. V. Krsrić, *Ultrastructure of the Mammalian Cell*: An Atlas. Berlin: *Springer*, 1979. 获 Springer-Verlag 版权允许)

17.1.1 坚固耐久的中间丝

中间丝就像是很多股长线绞起来以增加强度的绳子(视频 17.1)。这根绳子的每一股，即中间丝的亚基，都是长长的纤维蛋白。每一个蛋白质的氨基端有一个球状的头，而羧基端有一个球状尾巴，中央是一个细长的棒状区域(图 17-3A)。这个棒状区域由一个伸长的 α 螺旋区构

成，它使成对的中间丝蛋白以绕麻花的方式相互缠卷形成稳定的二聚体(图 17-3B)，就像在第 4 章中描述的那样。每两个这样的二聚体再以非共价键结合形成四聚体(图 17-3C)。四聚体再通过非共价键首尾或旁侧结合，最后产生绳状的中间丝(图 17-3D～F)。

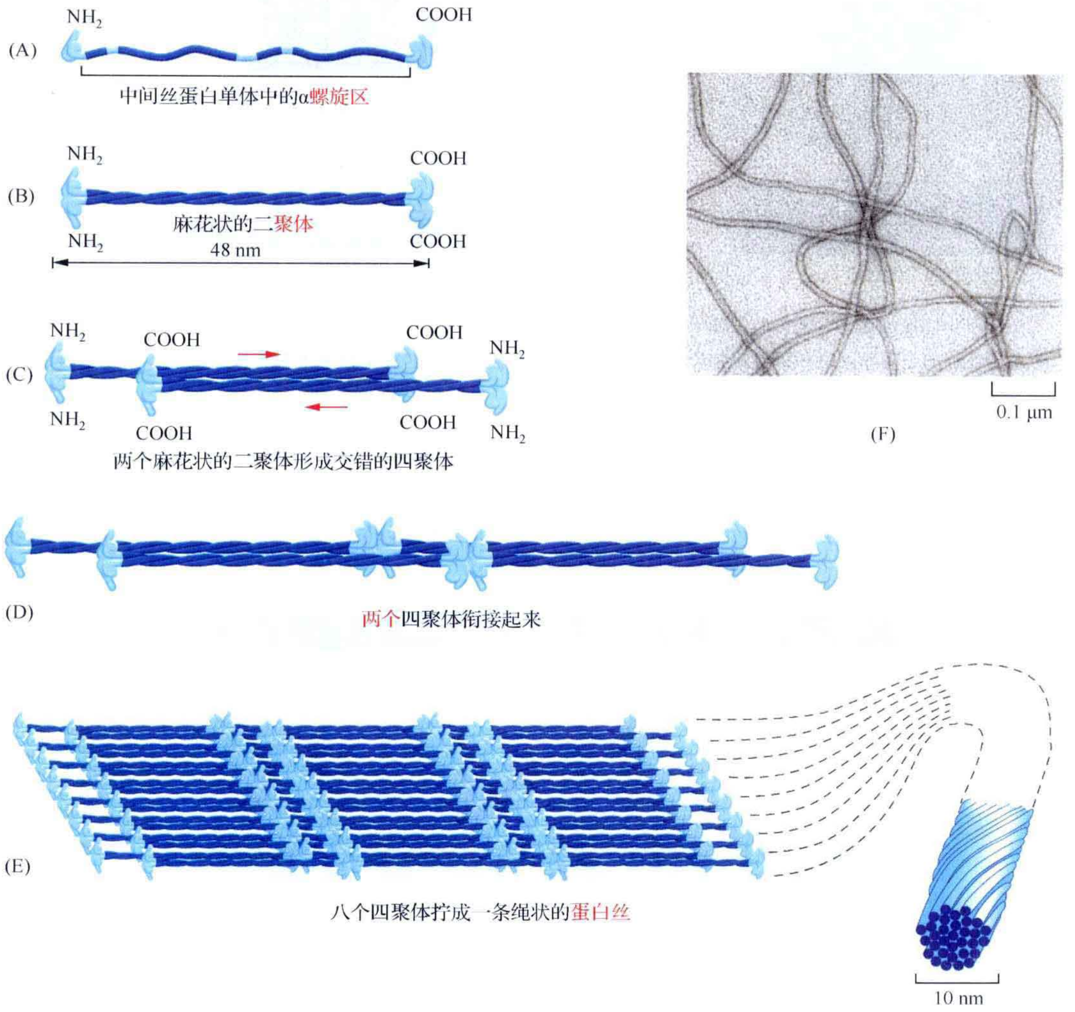


图 17-3 中间丝是由中间丝蛋白组成的长长的绳状扭链。(A) 中间丝蛋白单体由中央的棒状区域和两头的球状区域组成。(B) 成对的蛋白单体结合形成二聚体。(C) 两个二聚体排列形成错开的四聚体。(D) 四聚体头尾相连。(E) 由八条四聚体链扭在一起组装形成螺旋状的绳状中间丝(这里为了清楚起见，将八个四聚体展开铺平)。(F)直径 10 nm 的中间丝的电镜照片。(图 F 蒙 Roy Quinlan 惠许)

不同中间丝蛋白中央棒状区域的大小和氨基酸序列都是相同的，所以当它们聚集在一起时，往往形成直径和内部结构都相同的纤维。相反，球状的头尾区域暴露在纤维的表面，使之与胞质中其他组分发生相互作用。不同的中间丝在该区域的大小与氨基酸序列差异很大。

17.1.2 中间丝增强细胞应对机械压力

中间丝在那些容易受到机械压力的细胞的胞质中特别丰富。例如，它们在伸长的神经轴突中大量存在，为这个又细又长的细胞延伸体提供必要的内部支撑。它们在皮肤的肌肉细胞和上皮细胞中也很丰富。在所有这些细胞中，中间丝通过自身的伸展将细胞在某一点上所受到的外力分散到细胞的其他部位，使得细胞及细胞膜不至于在受到机械扭曲时破裂(图 17-4)。同样的

原理也用于制造复合材料，例如，对于纤维玻璃或钢筋混凝土，抗拉的线性材料诸如碳纤维（在纤维玻璃中）或钢筋（在混凝土中）就包埋在填充物中。

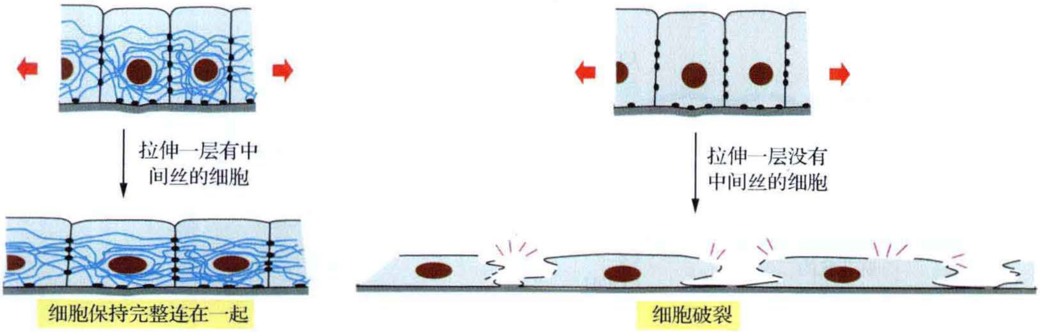


图 17-4　中间丝加固了动物细胞。如果一层上皮细胞由于外力而被拉伸（例如，由于周围组织的生长或运动），横跨这层细胞的中间丝网络和桥粒就会产生张力，从而限制拉伸的程度。如果只有桥粒连接而没有中间丝，同样的外力将引起细胞较大的形变，甚至引起质膜破裂。

中间丝可分为四类：①上皮细胞中的*角蛋白丝*；②位于结缔组织细胞、肌肉组织细胞和神经系统的支持细胞（神经胶质细胞）中的*波形蛋白和波形蛋白相关蛋白丝*；③神经细胞中的*神经纤维*；④增厚动物细胞核膜的*核纤层蛋白*（图 17-5）。前三种纤维存在于细胞质中；第四种则位于细胞核。每一种纤维由它们相应的蛋白亚基聚合而成。

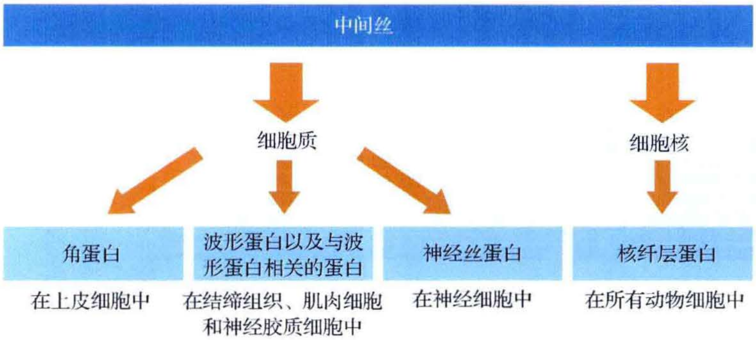


图 17-5　中间丝可以分成几种不同的类别

角蛋白是中间丝家族中变化最多的成员。无论是舌、角膜或是肠被覆层，脊椎动物每种上皮细胞都有它们特有的不同的角蛋白。在毛发、羽毛以及爪子中还有特化的角蛋白。在每一种情况下，角蛋白丝都由不同的角蛋白亚基混合组成。上皮细胞中的角蛋白丝往往从细胞的一边伸展到另一边，相邻两个上皮细胞中的角蛋白丝还间接地通过细胞与细胞之间的连接而联系起来，这种细胞连接称为*细胞桥粒*（图版 17-1）。角蛋白丝的末端锚定在细胞桥粒上，而暴露在纤维表面的球状的头尾区域则与胞质中其他组分有侧向联系。由穿行在整个上皮层中的角蛋白丝形成的这种高强度的缆索，可以在皮肤拉伸时分散细胞所受到的应力。这个功能的重要性可用一个罕见的人遗传病来说明。在*单纯型大疱性表皮松解症*的患者体内，基因突变干扰了上皮细胞中角蛋白丝的形成。其结果导致患者的皮肤特别经不起机械损伤，甚至轻轻碰一下皮肤就会导致细胞破裂，使皮肤出现水泡。

许多中间丝进一步的稳定和增强过程需要一些辅助蛋白，这其中就有网蛋白，它能交叉结合蛋白丝的纤维束以增强其排列。除了将中间丝集结成纤维束之外（尤其是波形蛋白），这些蛋

白质还能使中间丝连接到微管、肌动蛋白丝以及细胞桥粒的黏附结构上(图 17-6)。网蛋白的基因突变引起破坏性的人类疾病,其综合征状是单纯型大疱性表皮松解(由皮肤角蛋白的突变引起)、肌肉营养障碍(由肌肉中的中间丝的突变引起)和神经退行性病变(由神经纤维的突变引起)。小鼠缺失网蛋白导致出生几天后死亡,其表型为皮肤有水泡以及骨骼肌和心肌的异常。因此,尽管网蛋白对中间丝最初的形成可能不是必需的,但它与中间丝的交叉结合对于脊椎动物耐受机械压力是必不可少的。

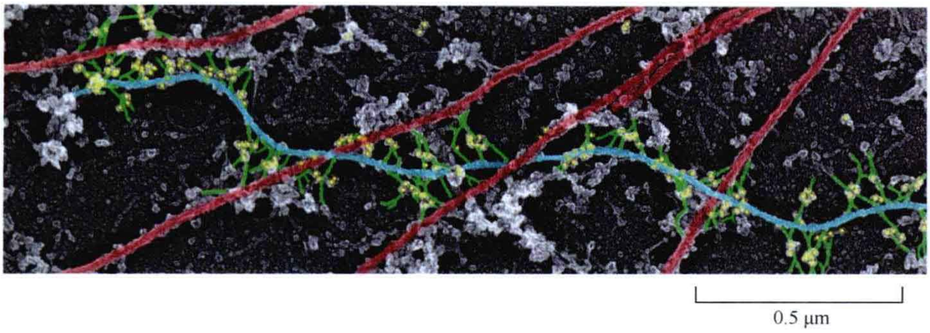


图 17-6 网蛋白帮助中间丝形成纤维束,并将这些蛋白丝连接到其他细胞骨架蛋白的网络中。网蛋白(绿色)将中间丝(蓝色)连接到其他中间丝、微管(红色)或肌动蛋白丝(图中未显示)上。在这张电镜照片中,黄色圆点是连接在能识别网蛋白抗体上的金颗粒。肌动蛋白丝网络已去除,显示这些蛋白质的相互连接。(引自 T. M. Svitkina 和 G. G. Borisy, *J. Cell. Biol.* 135: 991-1007, 1996. 获 Rockefeller University Press 版权允许)

17.1.3 核被膜由中间丝构成的纤维网络支撑

尽管细胞质中的中间丝形成绳状结构,但那些排列在核被膜内侧增加核被膜强度的中间丝却构成了一个二维的絮状网络(图 17-7)。在这个坚韧的**核纤层**中的中间丝是由一种被称为*核纤层蛋白*(lamin)的中间丝蛋白组成的[请不要将它与*层粘连蛋白*(laminin)混淆,后者是一个胞外基质蛋白]。和那些胞质内非常稳定的中间丝相比,核纤层里的中间丝在每次细胞分裂过程中都会被分解和重新组装。即在有丝分裂时核膜破裂,并在每个子细胞中重新组装(在第 18 章中讨论)。

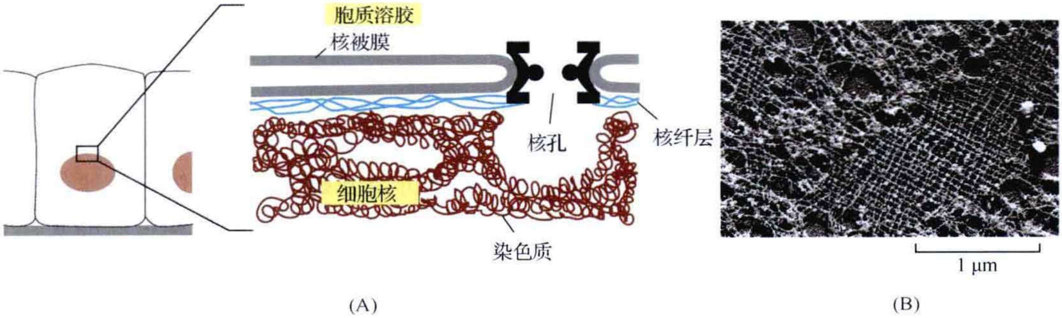


图 17-7 中间丝支撑并加固核被膜。(A) 核被膜的横切面图。核纤层的中间丝衬在核被膜的内侧面,被认为可以为含 DNA 的染色质提供附着部位;(B) 蛙卵核纤层的电镜图。中间丝核纤层蛋白所组成的方格网形成了核纤层。(其他细胞类型中的核纤层并不都像这里所显示的组织得如此有规律)(图 B 蒙 Ueli Aebi 惠许)

核纤层的组装和解体是由蛋白激酶催化核纤层蛋白的磷酸化和去磷酸化(在第 4 章中讨论)所控制的。当核纤层蛋白被磷酸化时,随之而来的构象变化减弱了四聚体间的结合力,纤维

就散开了。而有丝分裂末期的去磷酸化作用使核纤层蛋白又重新聚合起来(图 18-31)。

特定核纤层蛋白的缺失与某些类型的*早衰症*相关联。这是一种罕见的病症,会引起患者过早地衰老。患有早衰症的儿童的皮肤发皱,牙齿和毛发脱落,十几岁时就患上严重的心血管疾病。尽管研究人员尚不清楚核纤层蛋白的缺失如何导致这些症状,但一些研究结果提示细胞核的不稳定会导致细胞分裂受影响以及组织修复能力的降低。

17.2 微管

在所有的真核细胞中,**微管**起着重要的组织作用。微管是长长的、较为坚硬而中空的蛋白管道,它可以迅速地在胞内某个位置去组装,并在另一个位置再组装。在一个典型的动物细胞中,微管从细胞内靠近中央的一个被称为*中心体*的结构处开始生长(图 17-8A)。微管向细胞的四周延伸,在细胞内形成了一个轨道系统。沿着微管,各种小囊泡、细胞器以及其他细胞组分可以在胞内移动。这些胞质微管是细胞骨架的一部分,负责细胞内膜性细胞器的定位,并引导胞内的物质运输。

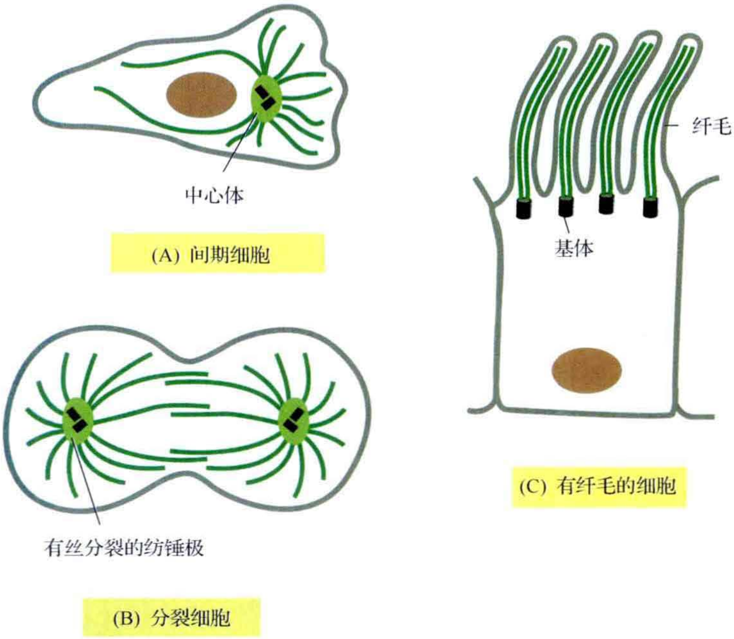


图 17-8 微管通常长出一个组织好的结构。与中间丝不同,微管(暗绿色)从一个组织中心生长出来,例如,(A) 中心体;(B) 纺锤极;(C) 纤毛的基体。

当一个细胞进入有丝分裂时,细胞质微管分散,然后组装成一个复杂的结构,称为*纺锤体*。正如第 18 章中要介绍的那样,有丝分裂纺锤体为在细胞分裂开始前把染色体均等地分配到两个子细胞中提供了机械装置(图 17-8B)。微管也可以形成永久性的结构,比如可以形成有节奏地摆动的毛发状的结构,称为*纤毛*和*鞭毛*(图 17-8C)。很多真核细胞的表面都有这种结构,用来推动细胞前进或是扫动细胞表面的液体。真核细胞纤毛或鞭毛的核心是一束高度有序的稳定微管(细菌的鞭毛是另一种完全不同的结构,它通过不同的机制作为一种推进装置)。

在这一节里,我们首先来看看微管的结构和组装过程,然后讨论它在组织细胞质内部的过程中所起的作用。微管的这个功能依赖于微管和辅助蛋白的相互作用,尤其是推动细胞器沿着细胞骨架的轨道运动的*马达蛋白*。最后,我们将要讨论纤毛和鞭毛的功能。在那里,微管永久性地结合马达蛋白,而后者驱使纤毛摆动。

17.2.1 微管是两端结构明显不同的中空管子

微管由亚基——**微管蛋白**——组成。每个亚基是由两个非常相似的球状蛋白(称为 α-微管蛋白和 β-微管蛋白)依靠非共价键结合形成的异二聚体。微管蛋白二聚体依靠非共价键相互堆砌起来,形成中空的柱状微管的壁。这个结构有点像是一个由 13 根平行的原丝组成,每一根微管蛋白二聚体的线性长链由交替出现在长轴上的 α-微管蛋白和 β-微管蛋白组成(图 17-9)。每一根原丝的结构都有极性,暴露在一头的是 α-微管蛋白,暴露在另一头的是 β-微管蛋白。而且这个**极性**——结构上具有的方向性——在所有的原丝中都是一样的,因而在整体上微管就有了极性。微管的一端被认为是 β-微管蛋白端,称为微管的正极;而另一端 α-微管蛋白端被认为是负极。

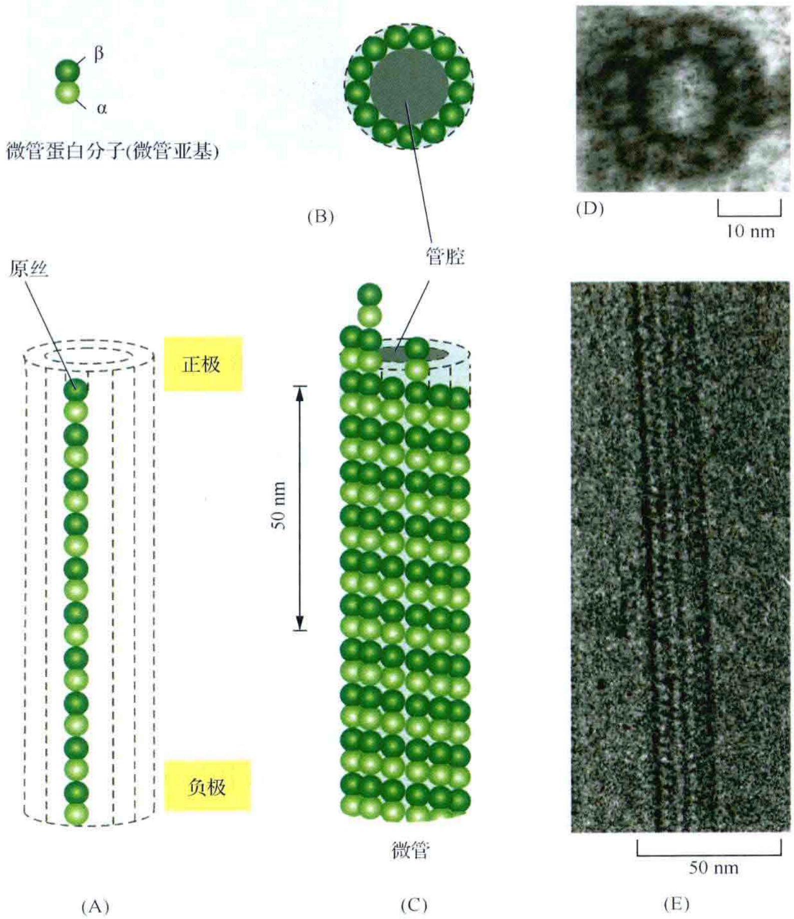


图 17-9 微管是由微管蛋白组成的中空管道。(A) 图显示为一个微管蛋白分子(一个 αβ-二聚体)和一根原丝以及它们在微管壁上的位置。请注意微管蛋白分子在原丝上均以同一方向排列,因而微管在结构上有确定的极性。(B 和 C)图显示微管蛋白分子如何在微管壁上相互聚集在一起的。上图为 13 个微管蛋白分子的横截面。下图为一小段微管的侧面,显示微管分子如何排列形成线性的原丝。(D) 一根微管的横切面,显示 13 个独特的亚基组成一个环,每个亚基代表一个单独的微管蛋白二聚体。(E) 电镜下微管的长度。(图 D 蒙 Richard Linck 惠许;图 E 蒙 Richard Wade 惠许)

在体外高浓度的纯微管蛋白溶液中,微管蛋白二聚体可以加到增长中的微管的任意一端,虽然加到正极的速度要比加到负极的速度快(这就是为什么当初如此命名这两端)。微管的极性——它的结构有一定的方向性,它两端的化学组分和行为都不相同——对于微管的组装和它们所行使的功能都是至关重要的。举例来说,如果微管没有极性,它们就不能朝一个特定的方向执行胞内的运输任务。

17.2.2 中心体是动物细胞中主要的微管组织中心

细胞中的微管从一个专门的组织中心生长出来。这个中心控制细胞质中微管的数量、位置及其方向。例如,在动物细胞的分裂间期,**中心体**通常位于靠近细胞核的地方。它控制着由此

向细胞质呈辐射状生长的微管(图 17-8A)。中心体包含以另一种微管蛋白——γ-微管蛋白组成的成百个环状结构,每个 γ-微管蛋白环都是微管生长的起始点,或者叫成核部位(图 17-10A)。αβ-微管蛋白二聚体以特定的方向添加到 γ-微管蛋白环上,导致每个微管负极都埋在中心体内部,而微管的正极朝向外部(图 17-10B)。

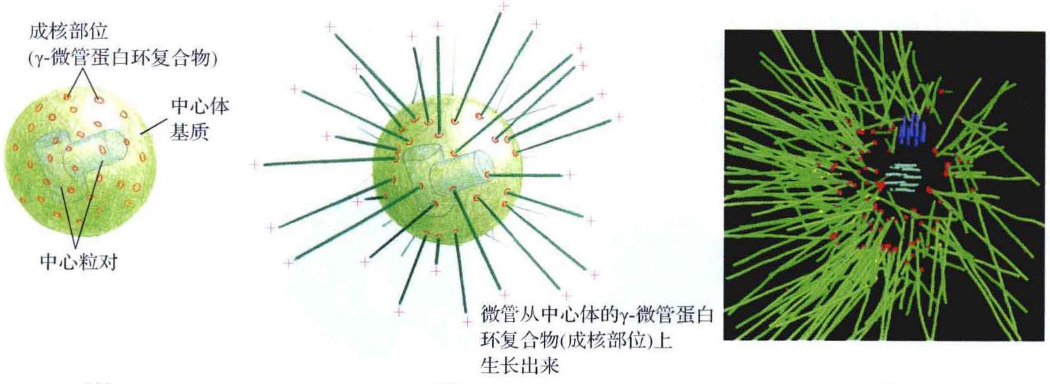


图 17-10 微管蛋白在中心体的成核位点聚合。(A) 显示一个中心体由无定形的蛋白基质以及所含的起成核作用的 γ-微管蛋白环组成。在动物细胞中,中心体含有一对中心粒,每一个中心粒都是一小段呈圆柱形排列的微管。(B) 中心体及附于其上的微管。每根微管都是从成核环长出,它的负极都被包埋在中心体中,而它的正极游离在细胞质中。(C) 一张重建后的图片,显示在线虫 *C. elegans* 细胞中,浓密的、像灌木丛似的微管从中心体处发射出来。(图 C 引自 E. T. O'Toole et al., *J. Cell Biol*. 163:451-456, 2003. 获 Rockefeller University Press 版权允许)

除了 γ-微管蛋白环,绝大部分动物细胞的中心体还含有一对**中心粒**。这是由一小段圆柱形微管组成的奇特结构。中心粒对于中心体中微管的成核过程并无作用(γ-微管蛋白环本身已经足够了),故而它们的功能仍然是个谜,尤其在植物细胞中中心粒并不存在。然而,即使不等同于基体,中心粒至少也类似于基体,它形成纤毛或鞭毛的微管的组织中心(图 17-8C),这些内容我们将在本章的后半部分加以叙述。

微管的形成需要像中心体中 γ-微管蛋白环所提供的成核部位,因为重新开始组装一根新的微管要比向已经存在的微管结构上添加二聚体困难得多。在体外,游离的纯 αβ-微管蛋白在高浓度时可以自发地发生聚合。但是在活细胞中,游离的 αβ-微管蛋白的浓度太低,无法启动组装一根新微管的起始环这个困难的第一步。通过提供带有成核部位的组织中心,同时保持游离的 αβ-微管蛋白的低浓度,细胞就能控制在何处形成微管。

17.2.3 增长中的微管表现出动态的不稳定性

一旦集结成核,形成微管,它的正极就开始不停地增加蛋白亚基,从组织中心向外生长并持续数十分钟之久。然后,微管会出乎意料地突然发生转变,蛋白亚基纷纷从游离末端上解离下来,使得微管很快向内缩短(视频 17.2)。微管有可能部分缩短,又突然开始增长;而有时可能会消失殆尽,然后从同一个 γ-微管蛋白环上重新开始生长出一根新的微管(图 17-11)。

这个值得关注的行为被称为**动态不稳定性**,它源于微管蛋白分子水解 GTP 的内在能力。每一个游离的微管蛋白二聚体都带有一个紧密结合的 GTP 分子。当微管蛋白亚基添加到正在生长的微管上之后,GTP 被立即水解成为 GDP(而 GDP 仍紧密地结合在微管蛋白上)。带有 GTP 的微管蛋白分子能够有效地结合到微管壁上,可是带有 GDP 的微管蛋白的构象发生变化,相互间的结合也不太牢固了。

当微管蛋白的聚合快速进行时,微管蛋白分子添加到微管上的速度要快于它所携带的

GTP 的水解速度。因此，新生成的微管末端全是由 GTP-微管蛋白亚基组成，形成了一个被称为 GTP 帽的结构。在这种情况下，生长着的微管还能继续增长（图 17-12A）。然而，由于化学反应过程的随机性，在添加下一个微管蛋白之前，偶尔也会发生位于微管游离末端的微管蛋白水解其自身携带的 GTP，所以原丝的游离末端此时就由 GDP-微管蛋白组成。这种变化使得原本的动态平衡倾向于微管的去组装（图 17-12B）。由于微管的其余部分都是由 GDP-微管蛋白组成的，所以一旦解聚开始，就会以惊人的速度继续下去；微管会迅速缩短直到消失。

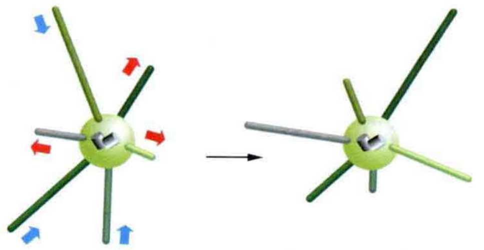


图 17-11　每根微管的增长和缩短与周围的微管无关。锚定在中心体上的微管排列持续改变形态。新的微管不断生成（红色箭头），而老的微管缩短（蓝色箭头）。

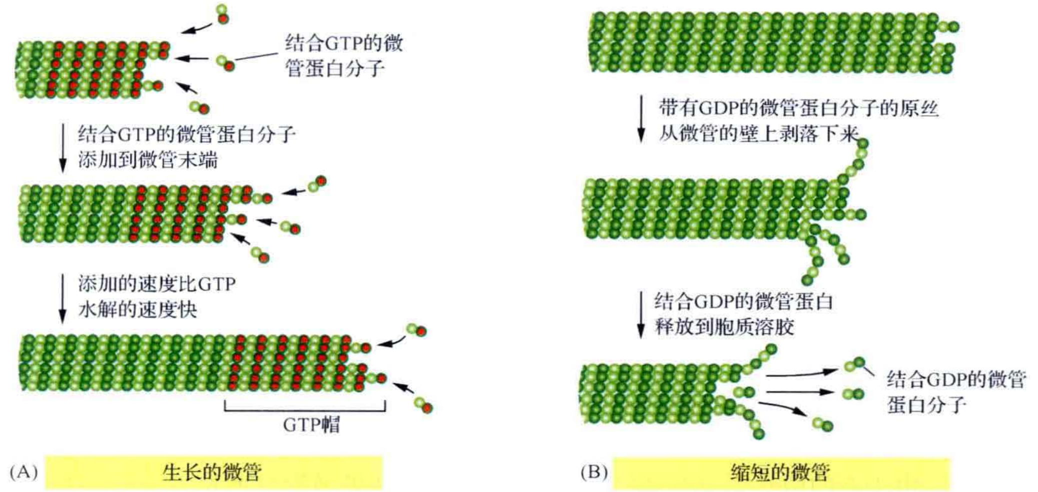


图 17-12　GTP 水解控制微管的生长。（A）与带有 GDP（深绿色）的微管蛋白二聚体相比，带有 GTP（红色）的微管蛋白二聚体相互之间的结合更为紧密。因此，带有 GTP 并新添加微管蛋白二聚体的微管更倾向于增长。（B）然而，特别当微管生长变慢时，这个“GTP 帽”中的亚基会在带有新 GTP 的亚基结合上来之前，就把自身所带的 GTP 分解成为 GDP。这样微管蛋白就失去了 GTP 帽，带有 GDP 的亚基与微管聚合物的结合不很紧密，而快速从游离端释放出来，这样的微管就开始不停地缩短（视频 17.3 和视频 17.4）。

因微管解聚而释放的游离 GDP-微管蛋白加入到细胞质中未聚合的微管蛋白分子中。例如，在一个成纤维细胞中，任何时候微管蛋白总量的一半总是形成微管；而另一半总是以游离态存在，形成一个蛋白亚基的库，随时供微管增长之用。这个现象和较为稳定的中间丝很不相同，在一个细胞中，中间丝的亚基几乎全部都以聚合的形式出现。微管蛋白把结合的 GDP 换成 GTP，于是又能添加到另一个处于生长状态的微管上去。

17.2.4　微管被维持在组装和去组装的动态平衡中

微管的相对不稳定性使它一直处于迅速的重建状态，而这对微管的功能是极为重要的。在一个正常细胞中，中心体（或其他组织中心）不停地向不同的方向试探性地射出和收回新的微管。一旦从中心体生长出来的微管的正极碰上了另一个蛋白质分子或细胞器并与之结合，那么它的正极就不能再解聚，因而变得稳定，微管也就不能再分解了。如果微管碰巧与一个在相当远距离之外的细胞器结合，那么微管就在该细胞器和中心体之间建立了较为稳定的联系（图 17-

13)。中心体可以比作为一个不停地抛鱼钩的渔夫：如果没有鱼儿咬钩，钓线就被迅速地收回再重新抛出；如果咬钩了，钓线就在鱼和渔夫之间建立起联系。这种随机探索和选择性稳定的简单策略使得中心体及其他成核中心在胞内建立起一个高度有序的微管系统来选择性地联络细胞内的不同部位。这一系统还用于确定一些细胞器相互的位置。

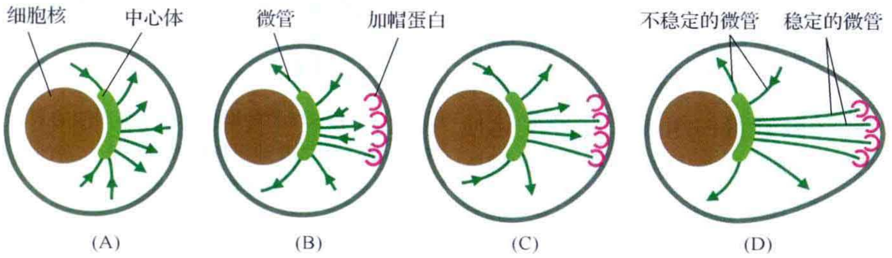


图 17-13 微管的选择性稳定导致细胞产生极性。一根新形成的微管只有在两端都受到保护而不被解聚的情况下才能保持稳定。在细胞中，微管的负极通常由启动微管生长的组织中心加以保护。而微管的正极最初是游离的，但也可以被其他蛋白质保护。例如，图(A) 描绘了一个非极性的细胞，它的新生微管从中心体随机地向各方向生长和缩短。(B) 有些微管偶尔会在细胞皮层的特定区域遇到能够与微管游离的正极相结合并使其稳定的蛋白质(加帽蛋白)。(C) 这种选择性的稳定作用导致微管发生迅速的重排。(D) 并使细胞转变为高度极性的形式。

阻止微管蛋白聚合或解聚的药物对细胞骨架的构成和细胞的行为具有快速而深远的效应。我们来看在有丝分裂时引导染色体到两个子细胞中去的微管装置——纺锤体(图 17-8B)。秋水仙素能够和游离微管蛋白紧密结合，使它无法聚合形成微管。如果用秋水仙素处理有丝分裂的细胞，纺锤体会迅速消失，细胞停滞在有丝分裂中期，染色体无法分离成两组。这说明纺锤体通常被维持在增减微管蛋白亚基的动态平衡中：当微管蛋白的添加被秋水仙素阻抑时，微管蛋白仍然持续地从微管上脱离直到纺锤体消失。

而药物紫杉醇在分子水平上的作用恰恰相反。紫杉醇可以和微管紧密结合，防止微管蛋白亚基的解聚。由于新的微管蛋白亚基仍然可以添加上去，结果微管只增长不缩短。然而，不去考虑它们在分子机理上的差别，紫杉醇产生的效果和秋水仙素是一样的：可以阻止细胞的有丝分裂。从这里我们可以知道，纺锤体的功能既依赖于微管能否组装，也有赖于微管能否去组装。在第 18 章里谈到有丝分裂时，我们还要深入讨论纺锤体。

纺锤体的失活或破坏最终都会杀死细胞。与身体的其他细胞相比，癌细胞的分裂几近失控。用稳定微管或与微管去稳定的*抗有丝分裂药物*能优先杀死癌细胞。因此，干扰微管聚合或解聚的药物，如秋水仙素、紫杉醇、长春新碱和长春碱，目前已用于癌症的临床治疗。当然，也存在一些化合物能够稳定或去稳定肌动蛋白丝。这些药物使得生物学家更好地研究细胞骨架的功能(表 17-1)。

表 17-1 影响肌动蛋白丝和微管的药物

微管特异性药物	机理
紫杉醇	结合微管并使之稳定
秋水仙素、秋水仙酰胺	结合亚基并防止聚合
长春新碱、长春碱	结合亚基并防止聚合
肌动蛋白特异性药物	
鬼笔环肽	结合肌动蛋白丝并使之稳定
细胞松弛素	加在肌动蛋白丝正极一端
红海海绵素(latrunculin)	结合亚基并防止聚合

17.2.5 微管把细胞的内部组织起来

细胞能够为了特定的目的而修正微管的动态不稳定性。例如，与胞质微管的正常情形相比，当细胞进入有丝分裂时微管就会变得格外活跃，更加频繁地伸长、缩短。这样能使微管快速发生去组装，并重新组装成纺锤体。另外，当一个细胞分化为特定的细胞类型并获得一种明确的固定结构时，微管的动态不稳定性常被一些蛋白质所抑制，这些蛋白质能够结合微管的末端或是沿着微管的长度方向，从而稳定微管，阻止去组装。这样，稳定的微管就被用来维持细胞的结构。

大部分分化的动物细胞是**极性的**。例如，神经细胞的一端长出轴突而另一端长出树突；分泌型细胞的高尔基体的位置都朝向分泌的一侧，等等。细胞的极性反映了细胞内部微管系统的极性，它可以帮助细胞器在其所需要的地方定位，还可以引导从胞内某处到另一处的物质运输。在神经细胞的轴突中，所有的微管都指向一个方向，即它们的正极朝向轴突的末端(图 17-14)。沿着这些有方向的轨道，细胞可以运送大量的物资，例如，膜泡和供分泌的蛋白质。它们都是在胞内合成的，但远处的轴突末端需要它们。

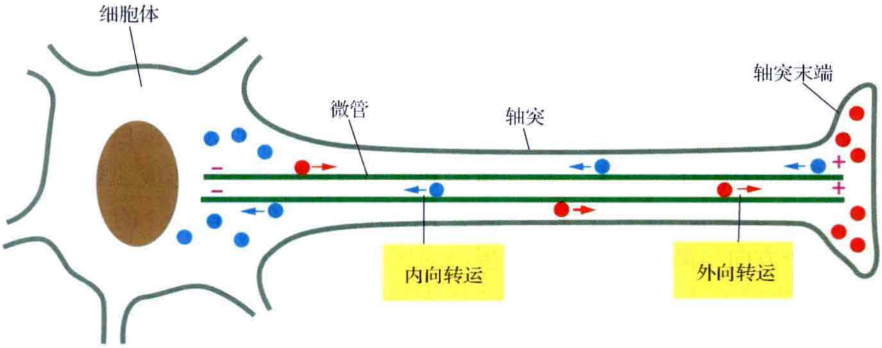


图 17-14 微管沿神经轴突输送“货物”。在神经细胞轴突中，所有的微管都朝向同一方向，即它们的正极朝向轴突末端。这些定向排列的微管被用作定向运输的轨道，转运某些在胞内合成却必须在轴突末端使用的物质(例如，轴突生长所必需的蛋白质)。一条轴突从脊髓穿行到肩部肌肉，这个旅行需要 2 天时间。除了由一套马达蛋白所驱动的向外的物质运输之外(红色圈)，还有由另一套蛋白质驱动的向内的物质运输(蓝色圈)。向内运输主要是由轴突顶端摄入的物质和蛋白质的降解产物，以及其他运回胞体的分子。

有些物质在细胞内沿着微管移动的速度超过每天 10 cm，但在大型动物的轴突中，这仍然意味着需要一个星期或更多时间才能到达轴突的末端。不过，与自由扩散相比，沿着微管移动显得更为快速而且效率更高。如果单靠自由扩散的方式运动，一个蛋白质分子即使最终能够到达轴突末端，也需要几年时间(见问题 17-12)。

然而，在一个活细胞里微管不是单独行动的。像其他细胞骨架纤维一样，它的功能依赖于大量的辅助蛋白，它们结合在微管上并起着各种不同的作用。例如，有些辅助蛋白附着在微管上起到稳定微管和防止去组装的作用；另一些辅助蛋白则连接微管与其他细胞组分包括其他细胞骨架纤维。不过，有些微管结合蛋白还是马达蛋白，能够沿着微管运送细胞器、各类小泡及其他各种细胞物质。由于细胞骨架的所有组分之间都能相互影响，因此它们的功能也能够相互协调。

17.2.6 马达蛋白驱动胞内转运

如果在光学显微镜下观察一个活细胞，可以看到它的胞质处于不停地运动着的状态(图 17-15)。线粒体以及更小的膜被细胞器、小泡等都在不停地做急速的运动——移动一段距离，停

下，再开始移动。这种跳跃运动比随机热运动引起的连续布朗运动要持久很多。在真核细胞中，肌动蛋白丝和微管都参与了跳跃的和其他有方向的胞内运动。这两种运动都由**马达蛋白**所驱动，马达蛋白利用水解 ATP 产生的能量沿着微管或肌动蛋白丝做单向移动（图 4-42）。同时，这些马达蛋白也和其他的细胞组分相结合，因而沿着蛋白丝运载这批货物。目前已发现了几十种马达蛋白，它们所结合的骨架蛋白纤维类型、运载的细胞器以及沿着蛋白丝运动的方向等方面都各不相同。

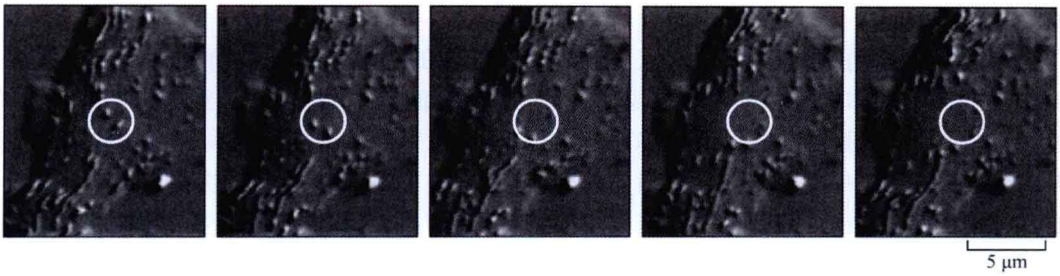


图 17-15　细胞器以不同的速度沿着微管移动。一个无脊椎动物神经细胞的一系列视频照片显示大量的膜泡和线粒体正在移动。白色圆圈显示在某个时刻下膜泡和线粒体的位置。每张图片的时间间隔为 400 ms。（本图蒙 P. Forscher 惠许）

像在神经细胞的轴突中那样，沿着胞质微管移动的马达蛋白可以归纳为两个家族：**驱动蛋白**通常向正极移动（背离中心体，朝向细胞体外侧，见图 17-14），而**动力蛋白**则向负极移动（朝向中心体，朝向细胞体内侧，图 17-14）。驱动蛋白和动力蛋白都能各自形成二聚体，并有两个球状 ATP 结合头部和一个尾部（图 17-14）。它的头部与微管以空间结构专一的方式结合，因此马达蛋白就只能以一个方向与微管结合。马达蛋白的尾部通常是和细胞组分如小泡或细胞器稳定结合的，因而也就决定了马达蛋白所运载的“货物”种类（图 17-17）。驱动蛋白和动力蛋白的球状头部都具有 ATP 水解酶的活性（ATP 酶），这个酶解反应所产生的能量可供这两个蛋白质的头部做一次构象变换，完成一套与微管结合、解离、再结合的动作，从而使蛋白质沿着微管移动（图 17-16B，图 4-42）。有关马达蛋白的发现和研究简况，请参见“我们如何得知”。

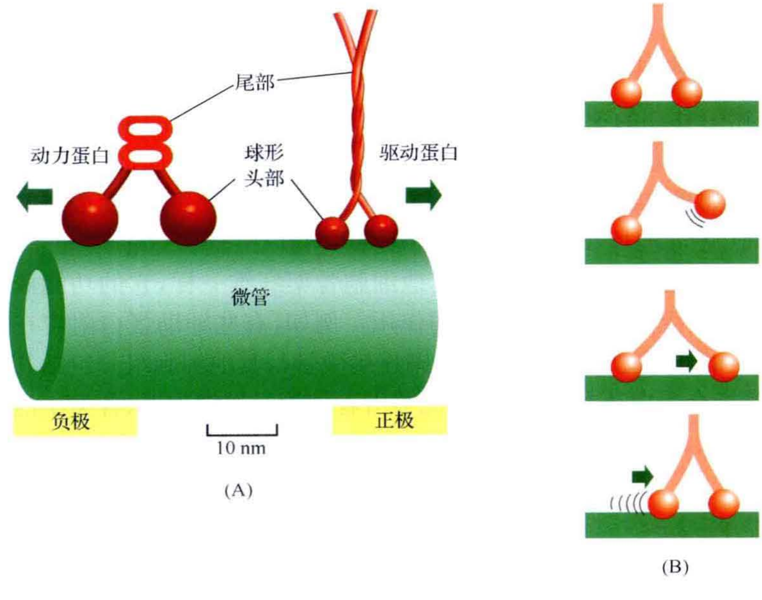


图 17-16　马达蛋白用它的球形头部沿着微管移动。(A) 驱动蛋白和细胞质动力蛋白是微管马达蛋白，通常沿着微管做相反方向的运动。这些蛋白质（这里按比例绘制）都是由两个相同的分子组成的二聚体。每个蛋白质的一端含有两个与微管相互作用的球形头部，另一端是一个尾部；(B) 图示是一个依赖于 ATP 的马达蛋白沿着蛋白丝移动（图 4-42）。

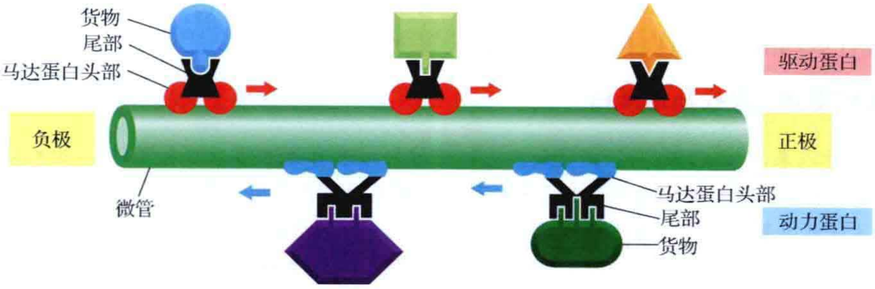


图 17-17 不同的马达蛋白沿着微管运载货物。大多数的驱动蛋白朝着微管的正极移动，而动力蛋白朝着微管的负极移动(视频 17.6)。这两种微管马达蛋白以很多形式存在，并被认为每一种马达蛋白负责运载不同的货物。马达蛋白的尾部决定了它所运载的货物的类型。

17.2.7 细胞器沿着微管移动

微管和马达蛋白在真核细胞内的膜被细胞器的定位上起着重要的作用。例如，在大部分动物细胞中，内质网的小管几乎一直延伸到细胞的边缘(视频 17.5)；而高尔基体则位于细胞内部靠近中心体处(图 17-18)。内质网和高尔基体的排列和定位都依赖于微管。内质网膜从它与核被膜的连接处开始向外延伸(图 1-22)，并与从中心体向细胞质膜伸展的微管并排。当细胞生长时，内质网也长大。这时附着在内质网膜(通过受体蛋白)外侧的驱动蛋白沿着微管向外拖，把内质网拉成一张网。动力蛋白则沿着微管把高尔基体往另一方向即向内朝着细胞的中心方向拉。通过这种方式，形成行使功能所依赖的内膜的区域差异，并得以保持。

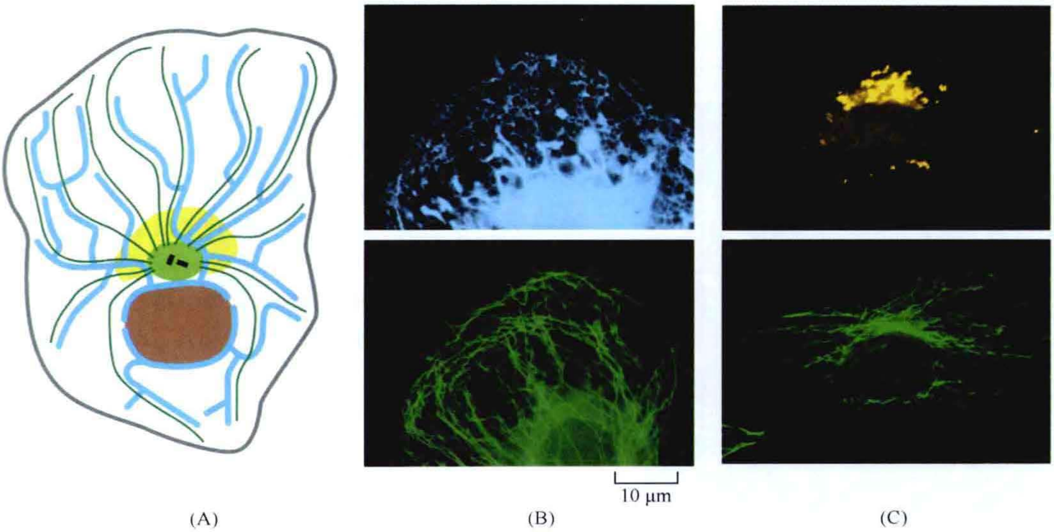


图 17-18 微管协助细胞器在真核细胞内布局。(A) 一个细胞中微管(深绿色)、内质网(蓝色)和高尔基体(黄色)的典型分布。细胞核为褐色，中心体为浅绿色。(B) 细胞经内质网抗体染色(上排)和微管抗体染色(下排)。马达蛋白沿着微管把内质网往外拉。(C) 细胞经高尔基体染色(上排)和微管抗体染色(下排)。在这种情况下，马达蛋白将高尔基体向内侧移动到邻近中心体的位置。(图 B 蒙 Mark Terasaki, Lan Bo Chen 和 Keigi Fujiwara 惠许；图 C 蒙 Viki Allan 和 Thomas Kreis 惠许)

使用阻止微管组装的药物如秋水仙素处理细胞，可使上述两种细胞器立刻戏剧性地改变它们的胞内定位。与核被膜相连的内质网溃散并分布到细胞的中心区，而不与任何其他细胞器相

关的高尔基体则分离成许多小囊泡散布在细胞质中。一旦撤去药物，这两种细胞器又被沿着重新形成的微管运动的马达蛋白拉回到原来的位置上。

我们如何得知：寻找马达蛋白

19世纪中叶以来，人们已经观察、测量和推测细胞质内细胞器的运动。但是直到20世纪80年代中期，生物学家们才找到真正能够驱动细胞器和囊泡从细胞一侧运动到另一侧的分子。

为什么从观察现象到最终弄清楚会滞后如此之久？问题就在于这些蛋白质——或者更准确地说，在细胞外分离和研究这些蛋白质的难度。为了研究一个酶的活性，比如生物化学家首先会纯化多肽：他们要破碎细胞或组织，并且从其他的成分中分离这些感兴趣的蛋白质（图版4-4和图版4-5）。之后，他们才能在体外研究这些蛋白质，使之接触底物、抑制剂、ATP等。不过，这种方法似乎并不能够用于研究胞内运输的分子机制。想要破碎细胞并恢复一套完整活性的运输系统而不带其他无关的物质，而且这些物质还能将线粒体和囊泡从一个位置运输到另一个位置，这是不可能的。

推动研究前进的技术来自两个不同的方面。首先，显微镜的发展使得生物学家能够从特定的细胞类型中挤压出一套胞内的运输系统（仍然带有无关的组分）。与此同时，生物化学家也意识到他们能够在细胞外利用纯化的"缆绳"、"马达"和"货物"来从零开始重新装配一套正常运转的运输系统。有关乌贼的研究促进了这项突破的开始。

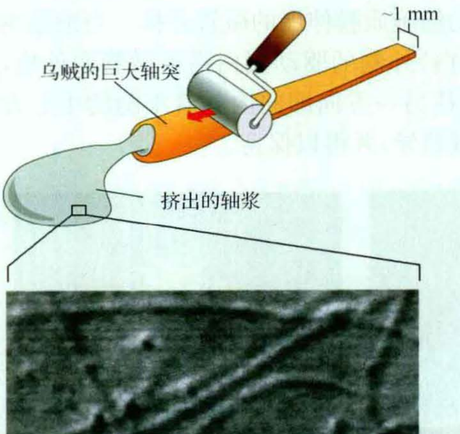


图17-19 视频增强光学显微镜观察从乌贼巨大轴突中挤出的细胞质显示细胞器的运动。在这张显微镜照片中可以看到无数根细胞骨架蛋白丝以及沿细胞骨架运输的微粒，包括线粒体（红色箭头）和小的囊泡（蓝色箭头）。（引自R. D. Vale et al., *Cell* 40: 449-454. 获Elsevier版权允许）

丰富的细胞质

正如我们在第12章看到的那样，神经生物学家对神经细胞细胞膜的电生理特性感兴趣，并且对乌贼的巨大轴突进行了长时间的研究（详见第12章"我们如何得知"）。由于它的尺寸巨大，研究人员发现他们能够像挤牙膏那样地从轴突中挤出细胞质，然后研究离子如何通过空管状的细胞的膜上离子通道而进出运动。当生理学家在光学显微镜下观察时，他们简单地将果冻状的细胞质丢弃，因为这东西看上去毫无用处（因而也不引人兴趣）。

之后，便产生了视频增强显微镜。Shinya Inoué，Robert Allen以及其他人进一步完善了这种显微镜，使之能检测到比光学显微镜的分辨率更小的结构。其分辨率大约为0.2 μm，即200 nm（详见图版1-1）。摄像机捕捉到样品的图像，经计算机处理后减少背景并增加对比度。20世纪80年代早期，研究人员将这项新技术应用于乌贼轴突细胞质（轴浆）的制备。他们第一次看到囊泡和被膜细胞器沿着细胞骨架移动。

在视频增强显微镜下，可以看到挤压后的轴浆里有大量微小的颗粒——从直径为30～50 nm的颗粒到长度为5000 nm的线粒体。这些颗粒沿着骨架蛋白丝以每秒5 μm的速度来回地移动。如果轴浆铺开得足够薄，就能看到单个的蛋白丝（图17-19）。

这种运动可以持续数个小时，这使得研究人员能够制备轴浆并开展研究。例如，Ray Lasek和Scott Brady发现细胞器的运动需要ATP。AMP-PNP能够结合酶的活性位点而不被水解（因此不产生能量）。用这类ATP类似物替代后，细胞器的转运就被抑制了。

蛇形的"管子"

我们需要更多的工作来寻找乌贼轴突中驱动运输系统的单个组分。蛋白丝是由什么构成的呢？沿着这些蛋白丝传送囊泡和细胞器的分子机制又是什么？发现这些蛋白丝"绳缆"相对简单。利用 α-微管蛋白抗体的研究揭示这些蛋白丝是微管。但是马达蛋白呢？为了寻找马达蛋白，Ron Vale、Thomas Reese 和 Michael Sheetz 建立了一套研究系统。在这套系统中，他们摸索寻找能够驱动细胞器运动的蛋白质。

其实，他们的研究策略很简单却又是一流的：将纯化的"绳缆"和"货物"放在一起，然后寻找能够诱发运动的分子。他们从乌贼的视叶中纯化得到微管，并加入从乌贼轴突中分离的细胞器，然后发现再加入一种从乌贼轴突细胞质得到的提取物后就能引起细胞器的运动。在这个制备过程中，研究人员能够看到细胞器沿着微管移动，并且看到微管在玻片表面像蛇形般的滑动(见问题 17-18)。他们遇到的挑战是在这个重组体系中分离得到负责细胞器运动的蛋白质。

为了这个目的，Vale 和他的同事们利用了 Lasek 和 Brady 早期有关 ATP 类似物 AMP-PNP 的研究工作。尽管这个 ATP 类似物能够抑制囊泡沿着微管运动，但它仍然能使这些组分结合到微管蛋白丝上。因此，在 AMP-PNP 存在的情况下，研究人员将细胞质提取物与微管蛋白混合；然后他们去除微管，并且希望马达蛋白仍然附着在微管上。之后，Vale 和他的研究团队加入 ATP 使得附着的蛋白质释放出来。他们从中发现了一个 110 kDa 的多肽，这个多肽能在体外结合微管并起始微管的运动(图 17-20)。他们将这个分子命名为动力蛋白(kinesin)(源自希腊文"*kinein*"，含有"移动"的意思)。

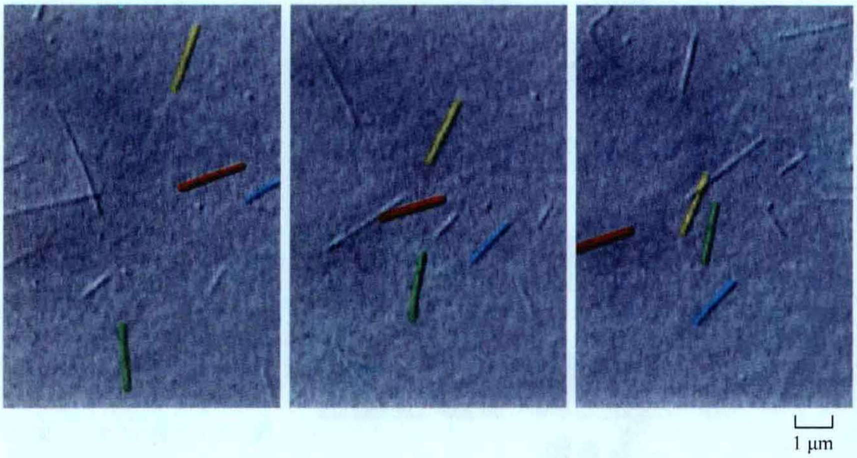


图 17-20　马达蛋白引起微管活动。在体外的运动能力实验中，在含有 ATP 的缓冲液中，纯化的动力蛋白与微管混合。当将这种混合物滴在玻璃片上并用视频增强显微镜观测时，就能看到位于玻璃片上的微管单体在动力蛋白的驱动下发生滑动。所摄照片的时间间隔为 1 s。(本图蒙 Nick Carter 和 Rob Cross 惠许)

这类体外的运动能力试验有助于研究马达蛋白及其活性。随后的研究显示动力蛋白沿着微管从负极移动到正极，并且由此发现了许多其他的动力蛋白相关蛋白。

灯光、摄像和开拍

结合这些体外的检测，通过更为精确的显微镜技术，研究人员现在能够在活细胞内监控单个马达蛋白沿着一根微管的运动。1990 年，Steven Blcok 和他的同事们发展了一种检测方法，即在微小的硅珠外包裹上低浓度的动力蛋白(一颗硅珠上仅带有一个动力蛋白分子)，这样就能看到硅珠沿着微管行走(图 17-21)。将马达蛋白和带荧光标记的蛋白(如 GFP)偶联也可以观察到单个动力蛋白分子。

这种单分子的研究显示动力蛋白沿着微管向前行进——也就是说，每个分子在从微管上掉下来之前大约前进 100"步"(图 17-22)。每一步的长度是 8 nm，这恰好等于微管上微管蛋白二聚体的间距。结合这些发现和 ATP 水解实验，研究人员确认动力蛋白每走一步都需要消耗一个 ATP。因为动力蛋白有两个头部，所以它能不断地前进移动(图 17-22)。动力蛋白被认为以一种左右交替的方式朝着微管的正极移动，每个头部依次结合和释放微管蛋白。研究人员需要进一步的研究来改进这个模型。目前他们正致力于改善实验方法，使之不仅能够看到单个动力蛋白分子，而且能够看到动力蛋白的头部沿着微管发生移动。这些研究结果

将使我们对分子运动产生新的认识，而分子运动本身则是真核细胞组织和活动的基础。

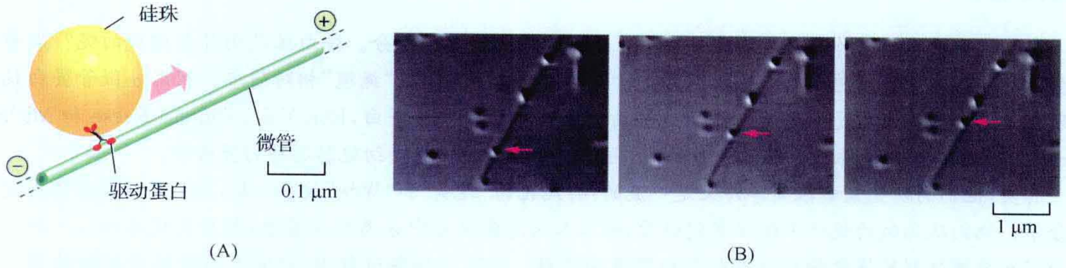


图 17-21 利用视频增强显微镜追踪单个动力蛋白分子的运动。(A) 在本实验中，硅珠涂上一定浓度的动力蛋白，使得每个硅珠上大约只粘上一个动力蛋白分子。当动力蛋白能够沿着微管行走时，硅珠的移动就能追踪动力蛋白的运动；(B) 在这一系列的照片中，通过基于激光的光镊技术能够捕捉到微管蛋白丝上硅珠的运动。每张照片之间的时间间隔为 30 s。(引自 S. Block et al., *Nature* 348:348-352, 1990. 获 Macmillan Publishers Ltd. 版权允许)

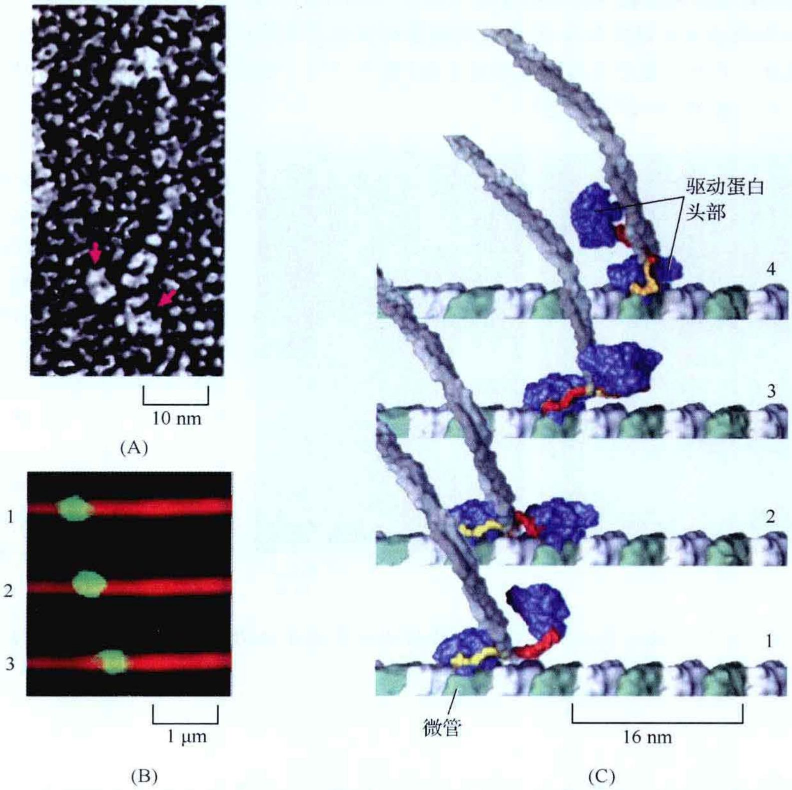


图 17-22 单个动力蛋白分子沿着微管移动。(A) 单个动力蛋白分子的电镜照片显示两个头部结构域(红色箭头)。(B) 三张时间间隔为 1 s 的照片记录了一个动力蛋白——绿色荧光蛋白分子(绿色)以 0.3 μm/s 的速度沿微管(红色)移动。(C) 动力蛋白分子头部的分子模型，显示它们如何沿着微管以 8 nm 的步伐持续行走(视频 17.1)。(图 A 蒙 John Heuser 惠许；图 C 蒙 Ron Vale 惠许)

17.2.8 动力蛋白驱动含有稳定微管的纤毛和鞭毛

在本章的起始部分，我们曾经提到在细胞中有不少微管，通过与其他蛋白质相互作用而变为稳定，因而不呈现动态不稳定性。细胞利用稳定的微管作为刚性的支撑物来建造各种各样的极性结构，包括细胞用来划动其表面液体的纤毛和鞭毛。**纤毛**是很多真核细胞表面延伸出来的直径约为 0.25 μm 的毛发状结构，由细胞膜覆盖(图 17-8C)。每根纤毛有一个由排列成一捆的稳定微管组成的核心，它从细胞质中的一个基体生长出来，基体是纤毛的组织中心。

纤毛的主要功能是划动细胞表面的液体或推动单细胞在液体中前进。例如,有些原生动物不但利用纤毛收集食物颗粒,还利用它来运动。衬在人呼吸道管腔面的上皮细胞(图 17-23)有无数根纤毛(每平方厘米超过 10 亿根),它们扫动带有灰尘微粒和死细胞的黏液层,并最终把它们排出体外。类似地,位于输卵管壁的细胞上的纤毛能产生一股液流,帮助卵子在输卵管中移动。每根纤毛就像是一个小型的船桨,在细胞表面反复摆动产生液流(图 17-24)。

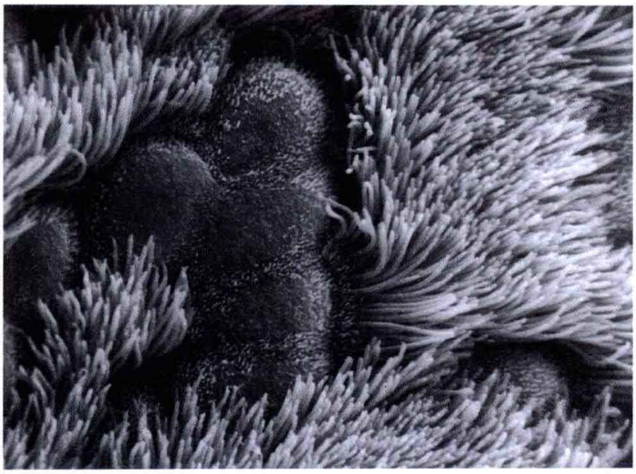


图 17-23 毛发状的纤毛覆盖在许多真核细胞的表面上。人呼吸道表面的纤毛上皮的扫描电镜照片。纤毛细胞的浓密纤毛簇中散布着小丘状的非纤毛上皮细胞。(引自 R. G. Kessel 和 R. H. Karden, *Tissues and Organ*. San Francisco: W. H. Freeman & Co., 1979. 获 W. H. Freeman & Co. 版权允许)

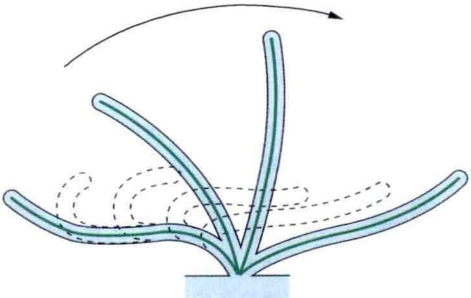


图 17-24 一根纤毛反复进行由动力冲程和复原冲程组成的运动循环,从而产生拍打动作。在快速的动力冲程中,纤毛完全展开,液体被推过细胞表面;而在较慢的复原冲程中,纤毛弯曲着,回复到原先的位置,最小限度地影响到周围的液体。每个循环一般需要 0.1~0.2 s,并产生和纤毛轴垂直方向的力。

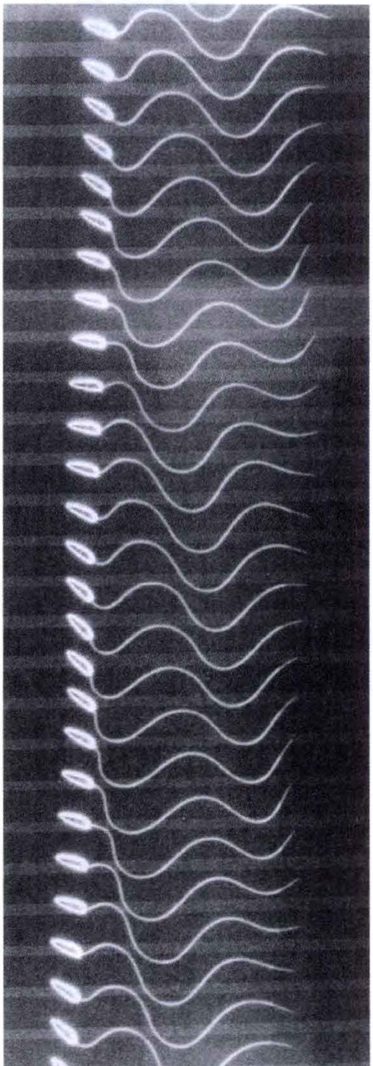


图 17-25 鞭毛通过反复的波形运动推动细胞前进。海鞘精子鞭毛反复的波浪形运动,由每秒 400 次闪光的频闪照明摄取的一系列图像。(本图蒙 Charles J. Brokaw 惠许)

推动多数原生动物和精子前进的**鞭毛**的内部结构很像纤毛,但通常要比纤毛长。它们是设计用来推动整个细胞的,而不是产生液流。鞭毛沿着长度方向传播规律性的波从而推动细胞在液体中穿行(图 17-25)。

纤毛和鞭毛中的微管与细胞质中的微管稍有不同，它们以一种奇妙而又独特的方式排列，成为早期电子显微镜的惊人发现之一。纤毛的横切面显示出 9 根双重微管围绕着一对单微管形成一圈(图 17-26A)。这种“9＋2”排列模式是从原生动物到人中几乎所有真核细胞的纤毛和鞭毛的特征。

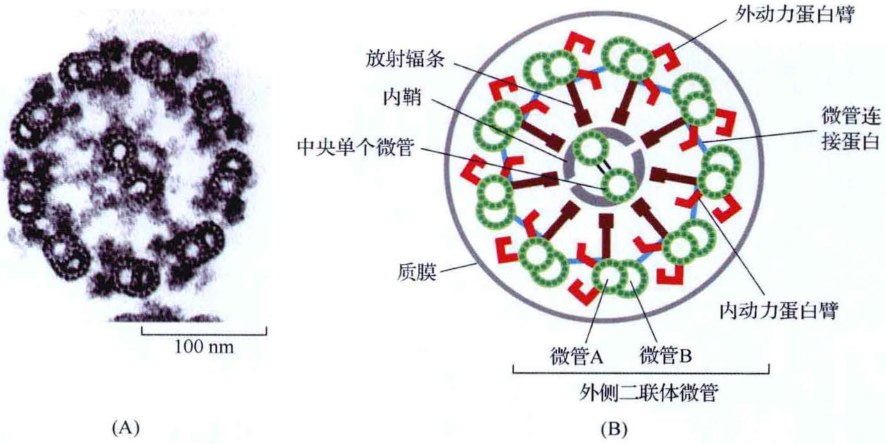


图 17-26　纤毛或鞭毛中的微管以“9＋2”方式排列。(A) 衣藻鞭毛横切面的电镜照片，显示特殊的 9＋2 微管排列；(B) 鞭毛横切面图解。9 根外层微管(每个都呈特殊的成对结构)带有两行动力蛋白分子。这些动力蛋白分子的头部在这里看起来像是成对的臂伸向相邻的微管。在活的纤毛中，这些动力蛋白的头部周期性地与相邻微管接触并沿其运动，从而产生用于纤毛拍打的力。这里所示的各种其他的连接和突起是一些蛋白质，它们把微管束约束在一起，将动力蛋白产生的滑动转换为弯曲运动，如图 17-27 所示。(图 A 蒙 Lewis Tilney 惠许)

纤毛和鞭毛的运动通过其核心微管相互之间滑动造成其轴心弯曲而产生。这些微管上结合着很多蛋白质(图 17-26B)，它们在沿微管束长度方向的位置上规则地伸出。其中有些蛋白质是将一束微管捆在一起的交联物；而另一些则产生使纤毛弯曲的动力。

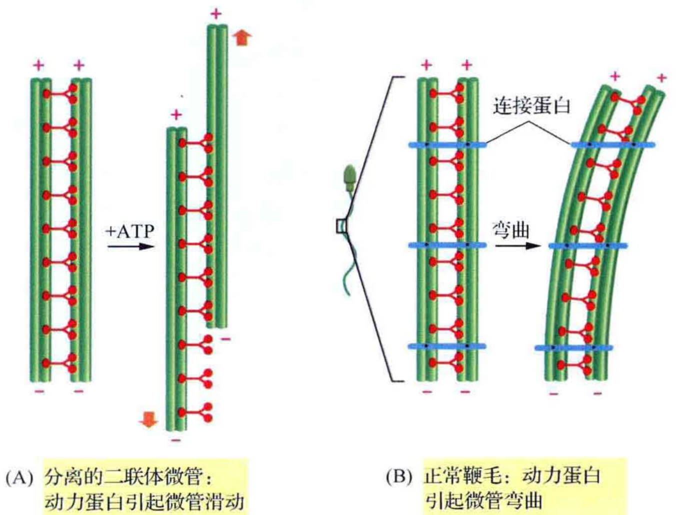


图 17-27　动力蛋白的运动导致鞭毛弯曲。(A) 如果外侧二联体微管及其结合的动力蛋白从精子鞭毛中分离出来，并接触 ATP，由于与其结合的动力蛋白的反复动作，它将会以望远镜拉张的方式相互滑动；(B) 然而，在一条完整的鞭毛中，它的外侧两联体微管通过可变的蛋白质连接而相互结合在一起，所以整个系统产生的动作是弯曲而不是滑动。

在这些辅助蛋白中，最为重要的是一种马达蛋白——**纤毛动力蛋白**，它产生核心的弯曲运动。它与细胞质动力蛋白相近，而且作用方式也差不多。纤毛动力蛋白用它的尾部附着在一根微管上，而它的头部与相邻的微管相互作用，产生这两根纤维之间的滑动力。由于将相邻的双

微管连接在一起的交联点有很多，因此在两根游离微管间简单的平行滑动在纤毛中就被转换为弯曲运动(图 17-27)。在人类中，纤毛动力蛋白的缺失导致卡塔格内综合征(Kartagener's syndrome)。这种疾病的男性患者是不育的，因为他们的精子不具运动能力。同时，患者支气管感染的可能性大大增加，这是因为他们呼吸道的纤毛无法运动，不能将细菌和废物排出肺部。

17.3 肌动蛋白丝

所有的真核细胞都有肌动蛋白丝，它对于细胞的多种运动尤其是与细胞表面有关的运动是十分重要的。如果没有肌动蛋白丝，动物细胞就不能沿着某一表面爬行，不能通过吞噬作用摄入大的颗粒，细胞也不能分裂。像微管一样，很多肌动蛋白丝是不稳定的，但它在细胞中也能通过结合其他蛋白质来形成稳定的结构，如肌肉中的收缩装置。肌动蛋白丝与许多种**肌动蛋白结合蛋白**相互作用，使它能够在细胞内行使各种功能。依赖于与各种蛋白质的互相结合，肌动蛋白丝可以形成坚硬而且相对永久的结构，如小肠的刷状缘细胞上的**微绒毛**(图 17-28A)，或是细胞质中像细胞的"肌肉"那样发挥收缩功能的**收缩束**(图 17-28B)；肌动蛋白丝也能形成临时性的结构，例如，爬行中的成纤维细胞的前缘突起(图 17-28C)，或是动物细胞分裂时将细胞质掐成两半的**收缩环**(图 17-28D)。在这一节中，我们将要了解细胞中肌动蛋白丝的排列取决于细胞中存在的肌动蛋白结合蛋白的种类。尽管肌动蛋白丝和微管由两种互不相关的蛋白质形成，但我们将会看到，它们在组装和去组装的方式、控制细胞的结构以及产生细胞的运动等方面却惊人地相似。

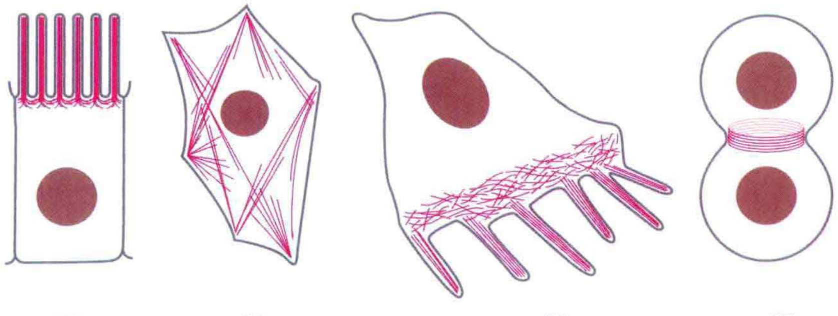


图 17-28 肌动蛋白丝使得真核细胞产生多变的外形，行使多样的功能。在这里，各种含有肌动蛋白的结构用红色标示：(A) 微绒毛；(B) 细胞质的收缩束；(C) 一个迁移细胞前端的片状伪足和丝状伪足；(D) 细胞分裂时的收缩环。

17.3.1 肌动蛋白丝纤细而富有柔韧性

在电子显微镜下可看到肌动蛋白丝的直径约为 7 nm。每条肌动蛋白丝是由相同的球状肌动蛋白分子组成的扭链，其中所有的球状肌动蛋白分子都"指向"沿链轴的同一方向。因此，肌动蛋白丝像微管一样在结构上有极性，有一个正极和一个负极(图 17-29)。

肌动蛋白丝通常比微管更纤细、更富有韧性，也更短。然而，单个细胞中肌动蛋白丝的数目要比微管多很多，肌动蛋白丝的总长度也至少比微管总长度多出数倍。很少有肌动蛋白丝在细胞中孤立地存在；它总是形成相互交联的束和网，这样就比孤立的单根纤维要结实得多。

17.3.2 肌动蛋白和微管蛋白通过相同的机制聚合起来

肌动蛋白丝以在任何一端添加肌动蛋白单体的方式增长，不过在正极的增长速度要比负极快。一根裸露的肌动蛋白丝就像没有结合蛋白的微管一样，呈现出固有的不稳定性，而且它的两端都可以去组装。每一个游离的肌动蛋白单体带有一个紧密结合的三磷酸核苷酸(在这里是 ATP)。当肌动蛋白单体聚合到肌动蛋白丝上时，它就水解成为 ADP。就像 GTP 结合微管那样，一根肌动蛋白丝中的 ATP 水解成为 ADP 后就减弱了单体之间的结合力，并且降低了聚合

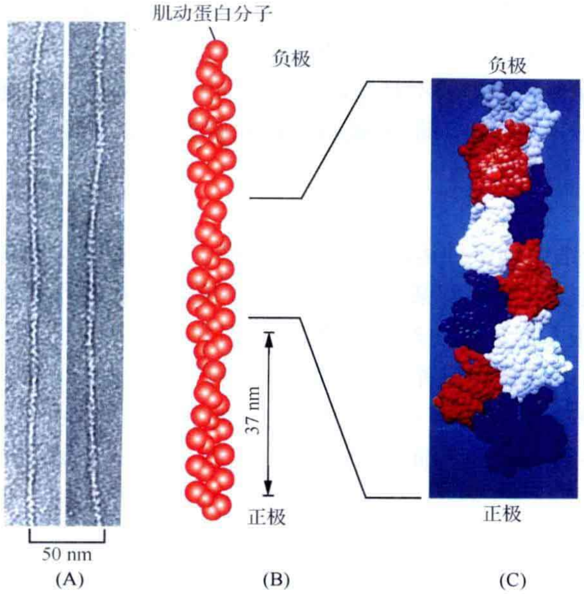


图 17-29 **肌动蛋白丝是纤细而富有弹性的蛋白细丝。**(A) 负染后的肌动蛋白丝的电镜照片;(B) 肌动蛋白丝中肌动蛋白分子的排列。每条蛋白丝由两股螺旋组成,每隔 37 nm 重复一个螺旋旋转。两股链之间存在着较强的相互作用,因而不会分开;(C) 一条肌动蛋白丝的相同亚基用不同的颜色画出,以此强调每个肌动蛋白分子与相邻的 4 个分子之间紧密的相互作用。(图 A 蒙 Roger Craig 惠许;图 C 引自 K. C. Holmes et al., *Nature* 347: 44-49, 1990. 获 Macmillan Publishers Ltd. 版权允许)

体的稳定性。因此,ATP 的水解促进了肌动蛋白丝的解聚,帮助细胞中已形成的肌动蛋白丝去组装(图 17-30)。

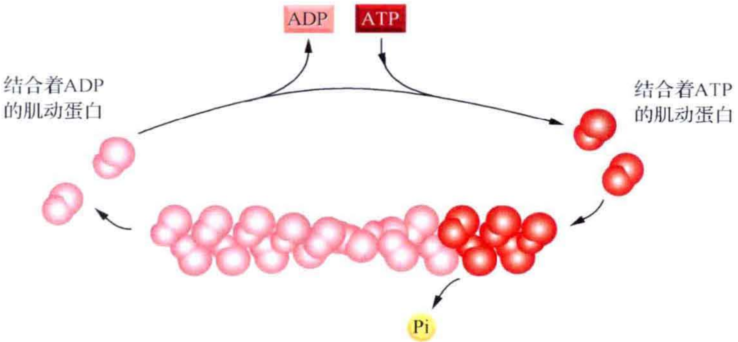


图 17-30 **ATP 水解降低肌动蛋白聚合体的稳定性。**胞质中的肌动蛋白单体带有 ATP,在被组装进入一根生长着的蛋白丝中后不久就被水解成为 ADP。ADP 分子被结合在肌动蛋白丝中,不能与 ATP 进行交换,直到携带它们的肌动蛋白单体从蛋白丝上解聚下来。

如同微管那样,肌动蛋白丝的组装和去组装对于它的许多功能来说是至关重要的,比如它们在细胞运动时所起的作用。通过加入真菌或海绵等生物产生的特定毒素,肌动蛋白丝的功能可被实验性地扰乱。例如,*细胞松弛素*可以阻止肌动蛋白的聚合;而*鬼笔环肽*稳定肌动蛋白丝并阻止其解聚(见表 17-1)。在细胞或组织的培养基中加入这些毒素,即使在低浓度的情况下,也能立刻阻止细胞运动如成纤维细胞的爬行运动。因此,肌动蛋白丝的功能就依赖于肌动蛋白丝和肌动蛋白单体的动态平衡。典型的肌动蛋白丝在形成之后一般只能持续数分钟时间。

17.3.3 许多蛋白质结合肌动蛋白丝并修饰其性能

在一个典型的动物细胞中,蛋白质总量的 5% 是肌动蛋白;而这其中有一半已经组装成为肌动蛋白丝,而另一半游离在胞质中。因而,细胞内肌动蛋白单体的浓度是相当高的——大大高于纯化的肌动蛋白单体在体外聚合时所需的浓度。那么,什么因素促使细胞内的单体不全部聚合成为肌动蛋白丝呢?答案就在于细胞含有许多像*胸腺素*和*肌动蛋白抑制蛋白*那样的小分子量蛋白,它们与细胞质中的肌动蛋白单体结合,防止它们添加到肌动蛋白丝的末端上去。通过将肌动蛋白保持在单体形式,直到必要时才加以利用,这些蛋白质在调节细胞内肌动蛋白的

聚合过程中起到了关键的作用。当细胞需要肌动蛋白丝时，其他肌动蛋白结合蛋白可以促进肌动蛋白丝的组装。在一个迁移的细胞的前端，形成素蛋白和肌动蛋白相关蛋白（ARP）都能控制肌动蛋白的组装。

细胞中存在着很多种肌动蛋白结合蛋白。它们中的大部分都结合到已组装的肌动蛋白丝并调控整条肌动蛋白丝的行为，而不是与肌动蛋白单体相结合（图 17-31）。例如，肌动蛋白成束蛋白能把微绒毛中的肌动蛋白丝连接成平行的纤维束；其他交联蛋白把细胞皮层中的肌动蛋白丝连接成凝胶状的网络（皮层是紧贴在细胞膜下的一层细胞质）；纤丝切割蛋白如凝溶胶蛋白则把肌动蛋白丝分割成较短的片段，从而把肌动蛋白凝胶转变为流动的状态。肌动蛋白丝也可以和马达蛋白相结合，形成肌细胞中可收缩的纤维束。它们还可被马达蛋白用作运送细胞器的轨道，该功能在植物细胞中尤为突出。

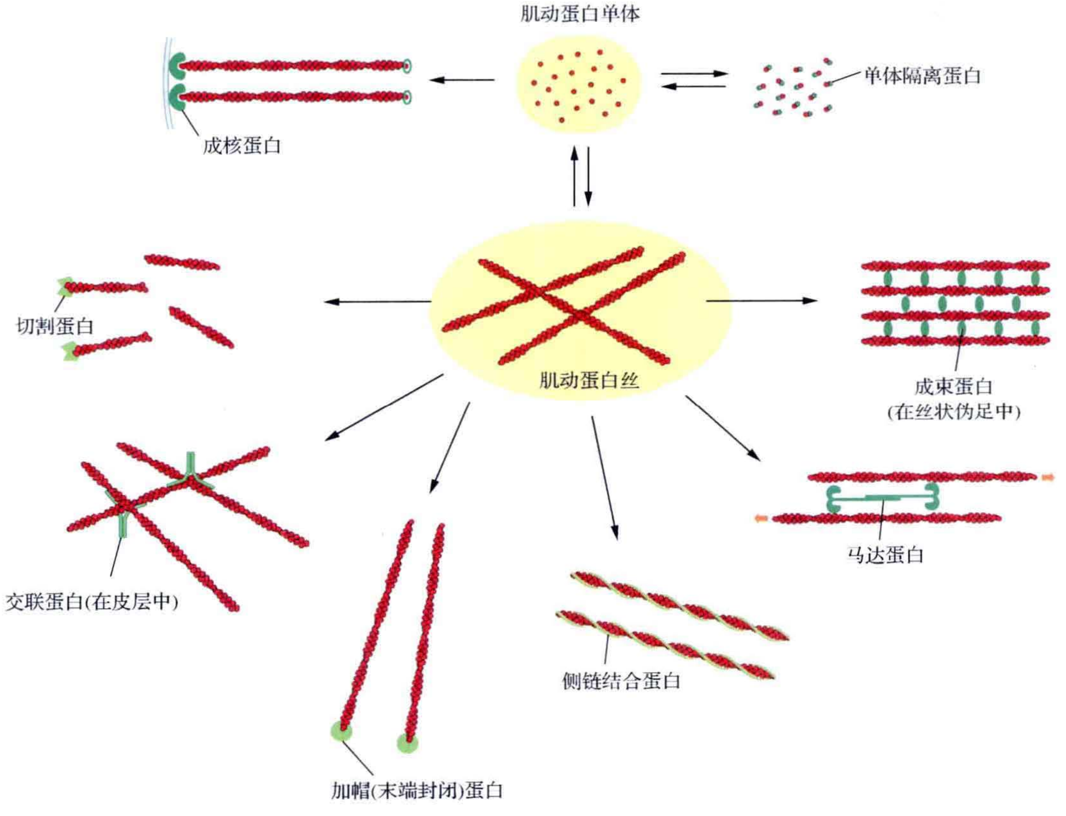


图 17-31　在脊椎动物细胞中，肌动蛋白结合蛋白控制肌动蛋白丝的行为。肌动蛋白用红色标示，肌动蛋白结合蛋白用绿色标示。

在本章的余下部分中，我们将要了解肌动蛋白丝可以形成的一些特殊结构，并讨论不同类型的肌动蛋白结合蛋白如何在它们的形成中起作用。我们开始介绍富含肌动蛋白丝的细胞皮层及它在细胞运动中的功能。最后部分，我们将介绍肌细胞中的收缩装置，以此作为基于肌动蛋白丝的稳定结构的一个范例。

17.3.4　大部分真核细胞质膜下有一个富含肌动蛋白的“皮层”

尽管在真核细胞的胞质中到处都可以找到肌动蛋白丝，但在大部分细胞里它集中在细胞膜之下的一个层面。这个区域被称为细胞皮层。在细胞皮层中，肌动蛋白丝由肌动蛋白丝结合蛋

白交联形成一个网络，支撑起细胞的外表面，并给予相应的机械强度。在第 11 章描述的红细胞中，一个简单而规则的纤维蛋白网紧贴着质膜，以维持其圆盘的形状(图 11-31)。不过，其他动物细胞的皮层要更厚且更为复杂一些，为细胞提供了更为多样的形状和运动。与红细胞中的皮层一样，它也含有血影蛋白和锚蛋白，还有伸向细胞质的较密的肌动蛋白丝，在那里它们交联成为一个三维网络。这个皮层肌动蛋白丝网络控制细胞质膜和细胞表面的形状以及机械性能：皮层中肌动蛋白丝的重排为细胞运动和细胞形状的改变提供了分子基础。

17.3.5　细胞的爬行依赖于肌动蛋白

很多细胞可以在物体表面爬行，而不是依靠鞭毛或纤毛来划动。肉食性的变形虫不停地爬行以寻找食物。生长中的轴突的前端对生长因子做出反应，沿着可扩散的化学物质在基膜上结合所形成的通路，到达它最终的突触靶点。当"闻"到了细菌所散发出来的扩散性小分子时，被称为*中性粒细胞*的白细胞就从血液向组织移动，并最终吞噬和消灭这些小分子。对于这些免疫系统的狩猎者来说，趋化分子结合到细胞膜受体后引发肌动蛋白丝组装的变化，从而促使细胞移向猎物。

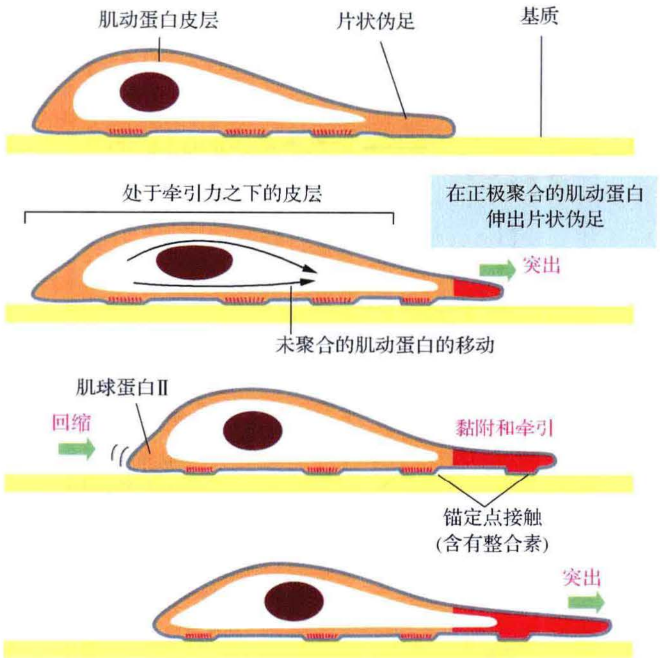


图 17-32　富含肌动蛋白的皮层产生使细胞向前进的力。在细胞运动的假定机制中，在细胞前缘(突出)的肌动蛋白聚合将质膜向前推进，并形成新的肌动蛋白皮层区(此处为红色)。新的锚定点位于肌动蛋白丝和细胞正在其上爬行的物体表面之间(黏附)。随后，皮层张力将胞体拖拉向前(牵引)。在细胞爬行过程中，新的锚定点在前端形成，而旧的锚定点在后端释放。同样的循环周而复始，使细胞一步步向前移动。

上述种种细胞爬行方式的分子机制需要细胞中不同区域的很多分子的协同变化，而不是像鞭毛这类单一而又容易分辨的细胞器的运动所造成。广义地说，三个相互关联的基本过程是必需的：①细胞在它的前端或前沿伸出突起；②这些突起附着在正在爬行的细胞的表面上；③细胞的其余部分通过锚定点上的牵引力把自己往前拉(图 17-32)。

所有这三个过程都涉及肌动蛋白丝，但是参与的方式是不同的。第一步，通过肌动蛋白聚合使细胞表面形成突起。爬行中成纤维细胞的前缘规律性地伸出薄薄的**片状伪足**。它们含有浓密的肌动蛋白丝网络，大部分纤维的取向使其正极接近于细胞质膜(图 17-33)。很多细胞也会伸出细而坚挺的突起，称为**丝状伪足**。它们不仅分布在细胞的前端，而且也分布在细胞表面的其他部分。丝状伪足宽约 0.1 μm，长 5～10 μm，每一根含有 10～20 根肌动蛋白丝组成的松散的纤维束，且它的正极向外。发育中的神经细胞的生长锥可以长出更长的丝状伪足长，达 50 μm。它可以帮助细胞探测周围环境，发现到达目标的正确路线。丝状伪足和片状伪足都是探索性的、可移动的结构，它们形成和回缩的速度极快，移动的速度约为每秒 1 μm。一般认为

两者都是通过肌动蛋白丝的迅速生长而产生的。肌动蛋白丝的组装过程靠近细胞膜，通过在它的正极加上一个肌动蛋白单体而得以延长。肌动蛋白丝就用这种方式让质膜向外延伸，而又不至于把质膜扯破。

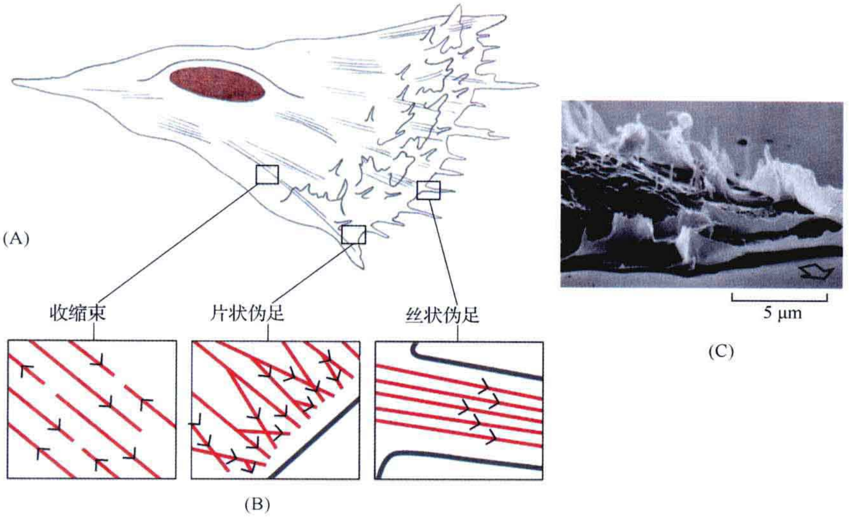


图 17-33 肌动蛋白丝促使细胞迁移。(A) 一个爬行中的成纤维细胞，显示从其表面，特别是前端表面伸出的扁平的片状伪足和纤细的丝状伪足。(B) 成纤维细胞的三个区域中肌动蛋白丝的排列情况。箭头指向肌动蛋白丝的方向。(C) 扫描电镜照片显示迁移中的人成纤维细胞前缘的片状伪足和丝状伪足。箭头指向细胞的迁移方向。(图 C 蒙 Julian Heath 惠许)

细胞前端的肌动蛋白丝的形成和生长需要大量的肌动蛋白结合蛋白的协助。其中，肌动蛋白相关蛋白(ARP)促进片状伪足内一大片分叉的肌动蛋白丝的形成。这些蛋白与已经存在的肌动蛋白丝形成复合物，并成为新的蛋白丝的核，产生有一定夹角的肌动蛋白丝分支(图 17-34)。在另外的肌动蛋白结合蛋白的帮助下，肌动蛋白丝网的前缘不断地组装，而它的后端不断地去组装，从而推动片状伪足前进。丝状伪足是另一种细胞突起，它依赖于形成素蛋白。形成素蛋白结合到肌动蛋白丝的生长端，促进新的肌动蛋白单体形成不分叉的肌动蛋白丝(图 17-35)。形成素蛋白在某些地方也用来组装不分叉的肌动蛋白丝，比如动物细胞分裂时的分裂沟。

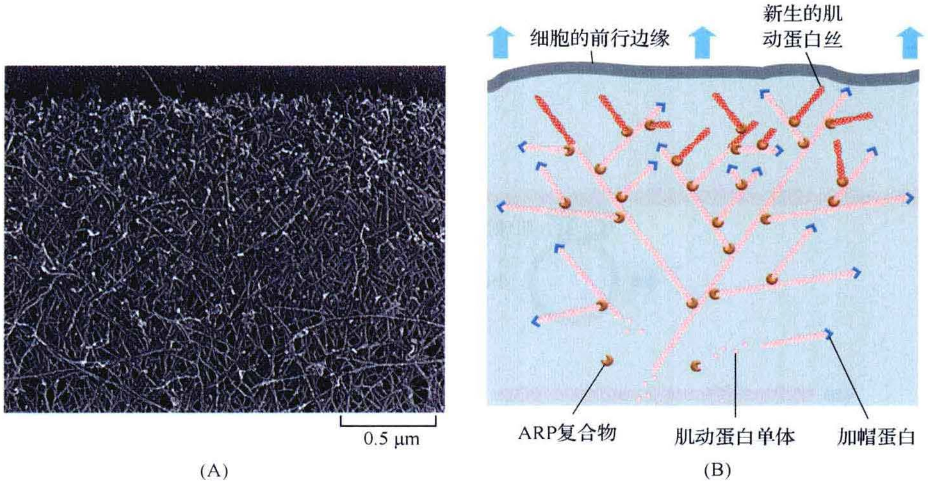


图 17-34 一大片肌动蛋白丝推动片状伪足的前缘向前移动。(A) 具有高度运动性的青蛙皮肤角质细胞被固定、脱水、铂金造影并在电镜下观察。肌动蛋白丝形成一个浓密的网络，它的快速生长端终止于片状伪足的边缘(图的上部)；(B) 一根新的肌动蛋白丝(红色)的成核作用由先前存在的蛋白丝一侧的 ARP 复合物(橘红色)介导。产生的分叉结构推动细胞膜向前进。肌动蛋白丝的正极被加帽蛋白(蓝色)所保护，而它的负极靠近细胞的中心，通过解聚蛋白(图中未显示)的活性持续地去组装。因此，由于前端的肌动蛋白丝组装而后端的肌动蛋白丝去组装，网状的肌动蛋白产生向后的运动。

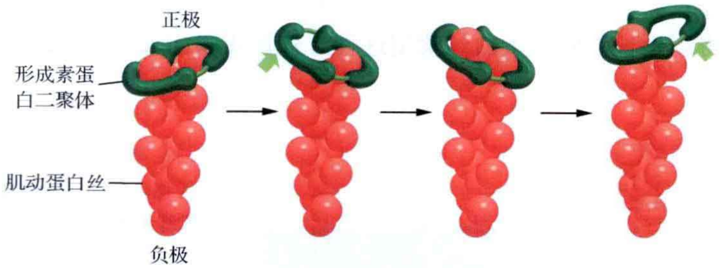


图 17-35 形成素蛋白帮助肌动蛋白丝的延伸。形成素蛋白二聚体（绿色）结合到一根肌动蛋白丝的生长端（红色）。每个形成素亚基结合一个肌动蛋白单体。形成素蛋白二聚体紧紧抓住位于正极的一个肌动蛋白亚基，拉进一个新的肌动蛋白单体，从而促进蛋白丝的生长。

当片状伪足和丝状伪足接触到一片合适的表面时，它们就黏附在上面。这时称为整合素的跨膜蛋白就与胞外基质中的分子或相邻细胞表面上的分子相结合，并在这另一个细胞上面爬行。同时，在细胞膜的胞内面整合素紧紧抓住肌动蛋白丝，从而为爬行细胞内部的肌动蛋白丝系统创造了一个牢靠的锚定点（图 20-14C）。然后细胞通过内部的收缩产生拉力，利用这个锚定点将自身向前拉（图 17-32）。这个过程很依赖于肌动蛋白，但是以不同的方式——通过称为肌球蛋白的马达蛋白与肌动蛋白丝的相互作用。目前，我们尚不清楚这种拉力是如何产生的：到底是收缩细胞质中的肌动蛋白丝束，还是收缩细胞皮层中的肌动蛋白丝网，或者是两者兼而有之。不过，肌球蛋白如何与肌动蛋白丝相互作用以产生运动的一般规律已经研究清楚，下面我们就来讨论这些内容。

17.3.6 肌动蛋白结合肌球蛋白并形成可收缩的结构

所有依赖于肌动蛋白的马达蛋白都属于**肌球蛋白**家族。它们结合并水解 ATP，为它们沿着肌动蛋白丝从负极向正极移动提供能量。肌球蛋白和肌动蛋白最初在骨骼肌中发现，目前我们对这两种蛋白质相互作用的了解也来自于对肌肉的研究。在细胞中存在着好几种不同类型的肌球蛋白，其中最主要的是肌球蛋白Ⅰ和肌球蛋白Ⅱ。肌球蛋白Ⅱ是肌肉中主要的肌球蛋白。而肌球蛋白Ⅰ存在于所有类型的细胞中，而且它的结构和活动机制都更为简单，所以我们先来讨论这一类。

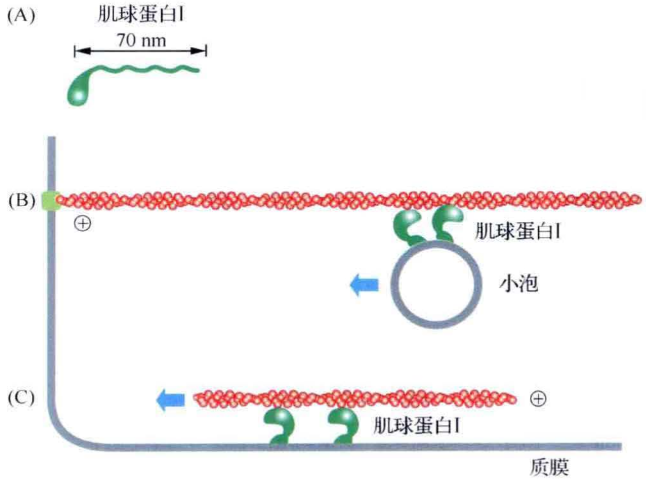


图 17-36 肌球蛋白Ⅰ分子的短尾含有许多结合位点，可以结合多种细胞组分包括细胞膜。（A）肌球蛋白Ⅰ有一个球形头部和一个结合其他分子或细胞器的尾部，这种结构使它的头部功能域驱动小泡发生相对于肌动蛋白丝的运动（B），或者驱动肌动蛋白丝与细胞膜发生相对运动（C）。注意，肌球蛋白的头部总是沿着它所附着的肌动蛋白丝向正极移动。

肌球蛋白Ⅰ分子只有一个头部区域和一个尾部（图 17-36A）。头部区域与肌动蛋白丝作用，并具有 ATP 水解活性，使它可以沿着肌动蛋白丝移动并完成一个结合、解离、再结合的循环（视频 17.9）。不同类型的肌球蛋白Ⅰ的尾部也各不相同，它决定马达要拉动什么样的细胞组分。例如，尾部可以结合一种特殊类型的膜泡，从而推动它沿着肌动蛋白丝的轨道移动（图 17-36B）；或者也可以和质膜结合，并拉着它发生相对于皮层肌动蛋白丝的运动，从而改变膜的形状（图 17-36C）。

17.3.7 胞外信号控制肌动蛋白丝的排列

我们已经了解到肌球蛋白和其他肌动蛋白结合蛋白能够调控肌动蛋白丝的位置、组织和行为。但是，这些辅助蛋白的活性也受胞外信号控制，使得细胞通过重新排列细胞骨架来适应环境。

对于肌动蛋白细胞骨架而言，嵌在细胞膜内的一大类受体蛋白引发这种结构上的重新排列。所以这些信号在胞内传递给一类 GTP 结合蛋白，我们称之为 **Rho 蛋白家族**。正如我们在第 16 章所看到的，这一类蛋白质就像是通过活化、GTP 结合、失活和 GDP 结合四种状态的循环来调控细胞进程的分子开关(图 16-14B)。以细胞骨架为例，激活 Rho 蛋白家族的不同成员会在不同方面影响肌动蛋白丝的组织。比如，激活 Rho 蛋白家族的一个成员引起肌动蛋白的聚合和成束，并形成丝状伪足；激活另一个成员则促进片状伪足的形成和膜皱褶；而激活 Rho 蛋白本身促使肌动蛋白丝和肌球蛋白Ⅱ成束，加快整合素成簇并推动细胞爬行(图 17-37)。

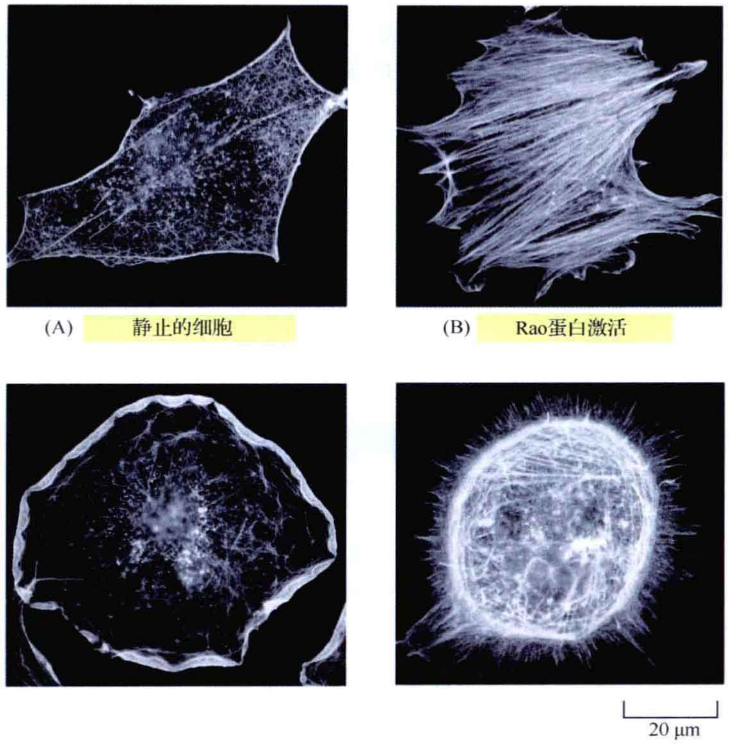


图 17-37 在成纤维细胞中，激活 GTP 结合蛋白对肌动蛋白丝的组织具有显著的效应。在这些显微照片中，肌动蛋白用荧光标记的鬼笔环肽标记，因为这种分子能结合肌动蛋白丝(表 17-1)。(A) 正常的成纤维细胞的肌动蛋白丝主要定位在皮层里。(B) 显微注射活化形式的 Rho 蛋白后，促进长且不分叉的收缩束的快速组装。(C) 显微注射活化形式的 Rac 蛋白(一种类似于 Rho 的 GTP 结合蛋白)，引起片状伪足的大量形成，并遍布整个细胞周围。(D) 显微注射活化形式的 Cdc42 蛋白(另一个 Rho 蛋白家族成员)，刺激细胞周围伸出许多长长的丝状伪足。(引自 A. Hall, *Science* 279: 509-514, 1998. 并获 AAAS 版权许可)

产生这些引人注目的、复杂的结构变化是因为 GTP 结合蛋白与蛋白激酶以及与之相互作用的辅助蛋白，一起以计算机网络的形式来调控肌动蛋白的组织和动态变化。这个网络接受来自营养物、生长因子等胞外信号，与邻近的细胞相互联系，交流关于细胞营养状态、大小和细胞分裂的准备等“内部信息”。然后，Rho 蛋白对这些输入信息进行加工，并产生改变肌动蛋白细胞骨架的信号。例如，可以通过激活形成素蛋白来促进丝状伪足的形成(图 17-35)，或者通过增强位于细胞前端的 ARP 复合物的肌动蛋白成核活性来产生更大的片状伪足。

当神经系统发出信号并使肌纤维中的肌动蛋白结合肌球蛋白时，就会产生一种受到严格调控的细胞骨架重排。现在，我们就来了解分子间的这种相互作用如何在脊椎动物肌肉收缩时产生快速、重复而有力的特征。

17.4 肌肉收缩

肌肉收缩是最为熟悉、了解得最为清楚的动物细胞运动。脊椎动物的跑、跳、走、游泳和飞翔都依赖于骨骼肌强有力地收缩并带动不同的骨骼。非自主运动如心脏的搏动和肠的蠕动分别依靠心肌和平滑肌的收缩。心肌和平滑肌都由肌细胞组成，虽然结构上和骨骼肌不同，但都利用肌动蛋白和肌球蛋白进行收缩。虽然肌细胞高度特化，许多细胞运动——从整个细胞的移动到细胞内组分的移动——都取决于肌动蛋白和肌球蛋白的相互作用。我们对细胞运动机制的很多认识都来自于有关肌肉细胞收缩的研究。在本节里，我们来讨论肌动蛋白和肌球蛋白如何相互作用来产生连贯的运动。

17.4.1 肌肉收缩依赖于肌动蛋白和肌球蛋白的纤维束

肌肉中的肌球蛋白属于肌球蛋白Ⅱ亚家族，全都含有两个 ATP 酶的头部和一个长长的棒状尾部（图 17-38A）。每个肌球蛋白Ⅱ分子都是由一对相同的肌球蛋白分子的尾部结合在一起所组成的二聚体；一端是两个球状的 ATP 酶头部，而另一端是一个卷曲螺旋的尾部。肌球蛋白Ⅱ分子簇通过它们卷曲螺旋的尾部相互结合在一起，形成**肌球蛋白丝**，而它们的头部分别突出在丝的旁侧（图 17-38B）。

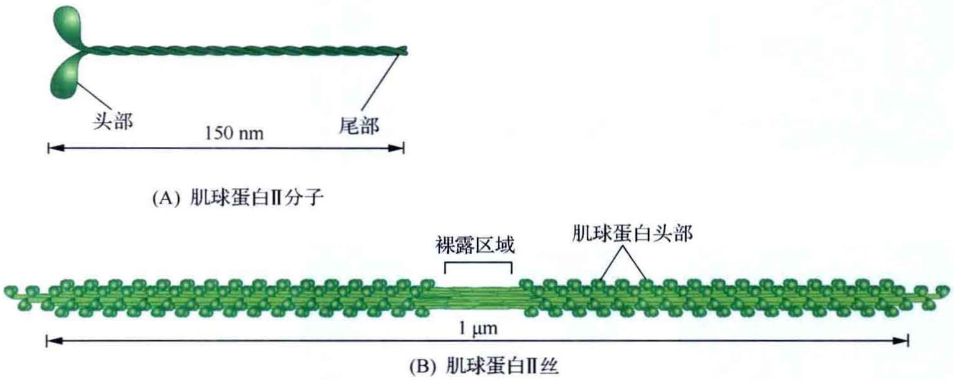


图 17-38 肌球蛋白Ⅱ分子能够相互结合进而形成肌球蛋白丝。(A) 一个肌球蛋白Ⅱ分子含有两个球形头部和一个卷曲螺旋的尾部。(B) 肌球蛋白Ⅱ的尾部相互结合从而形成一个双极性的肌球蛋白丝，它的两个头部沿相反方向暴露在外。肌球蛋白丝中央的裸露区域仅仅由尾部组成。

肌球蛋白丝像一支双头箭，它的两套头部分别指向背离中心的相反方向。其中一套头部以一种方向与肌动蛋白丝结合，使之朝一个方向移动；而另一套头部以相反方向与另外的肌动蛋白丝结合，使之朝相反的方向移动（图 17-39）。其结果是使取向相反的肌动蛋白丝之间产生滑动。因此我们可以看到，如果肌动蛋白丝结合肌球蛋白丝并成束，它就可以产生收缩力。这在肌肉收缩中了解得很清楚，但也发生在非肌细胞中临时形成的由肌动蛋白丝和肌球蛋白Ⅱ丝组成的**收缩束**中（图 17-28B），以及出现在**收缩环**中，通过收缩并将质膜往里拉，从而把分裂的细胞掐成两个细胞（在第 19 章中加以讨论）。

17.4.2 在肌肉收缩中，肌动蛋白丝和肌球蛋白丝相互滑动

骨骼肌的长纤维是由许多单个的小细胞融合而成的巨大单细胞。单个小细胞的核仍留在肌纤维中，位于质膜下面。大部分的细胞质由**肌原纤维**组成，它是肌细胞的收缩元件。这些圆柱形的结构直径为 1～2 μm，几乎和肌细胞等长（图 17-40A）。

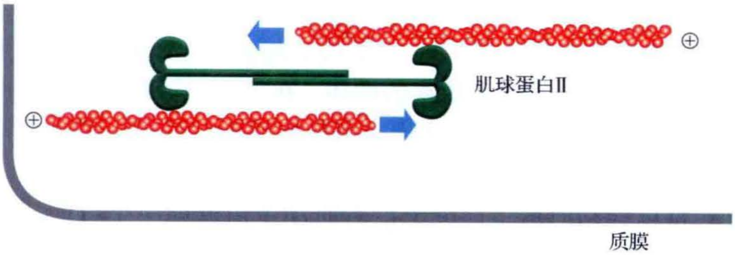


图 17-39 由肌球蛋白Ⅱ分子构成的双极性的微丝能使肌动蛋白丝相互滑动，因而介导一根肌动蛋白丝束发生局部性缩短。与肌球蛋白Ⅰ一样，肌球蛋白Ⅱ的头部都沿着它所附着的肌动蛋白丝向正极移动。

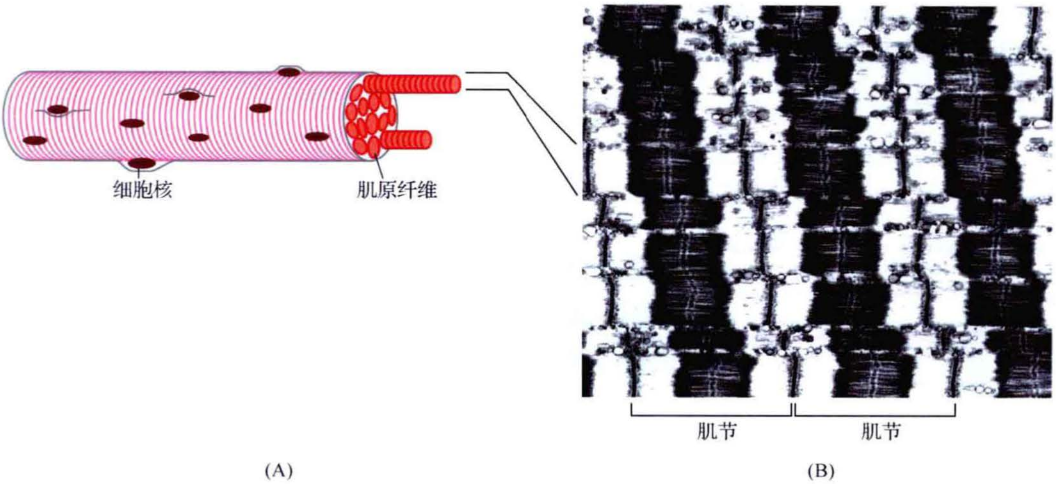


图 17-40 一个由肌原纤维堆积而成的骨骼肌细胞，每根肌原纤维由肌节的重复长链组成。(A) 在成人体内，这些巨大的多核细胞（也称为肌纤维）的典型直径为 50 μm，长度可达几厘米。它们含有许多肌原纤维，其中的肌动蛋白丝和肌球蛋白丝排列形成高度有序的结构，使肌原纤维具有条纹状的外观。(B) 兔骨骼肌细胞纵切面的低倍电镜照片，显示有规则的肌节结构。肌节是肌原纤维的收缩单位。（图 B 蒙 Roger Craig 惠许）

肌原纤维由一连串相同的小收缩单位即**肌节**组成，每个肌节长约 2.5 μm。由于肌节成串排列，这使得脊椎动物的肌原纤维看起来呈条纹状（图 17-40B）。肌节中的两类纤维——肌动蛋白丝和肌肉专一的肌球蛋白Ⅱ丝——以高度有序的方式组装在一起。肌球蛋白丝（*粗丝*）位于每个肌节的中央，而较细的肌动蛋白丝（*细丝*）则由肌节的每一端向中央延伸（在肌节的每一端，肌动蛋白丝的正极锚定在一个称为 Z 盘的结构上），并与肌球蛋白丝的末端重叠（图 17-41）。

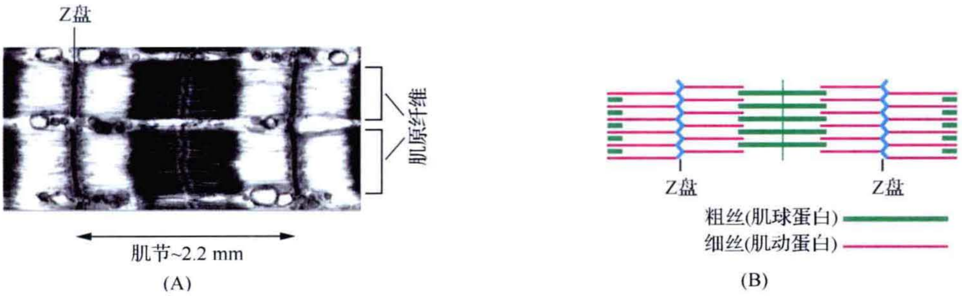


图 17-41 肌节是肌肉的收缩单位。(A) 图 17-40 中骨骼肌细胞的细节，在标出的一个肌节范围内显示两个肌原纤维。(B) 单个肌节的图式，显示显微镜下所见的深浅相间的条纹的由来。肌节两端的 Z 盘是肌动蛋白丝的附着点；位于中央的粗丝（绿色）每根都是由许多肌球蛋白Ⅱ分子组成的。（图 A 蒙 Roger Craig 惠许）

肌细胞的收缩是由于所有的肌节同时变短造成的，而这一现象的产生又是由于肌动蛋白丝

相对于肌球蛋白丝产生滑动但不改变两种丝的长度(图 17-42)。肌球蛋白的头部突起在肌球蛋白丝的侧面,与相邻的肌动蛋白丝相互作用从而产生滑动。当肌肉受刺激引起收缩时,肌球蛋白的头部开始沿着肌动蛋白丝移动,产生反复的附着和脱离的循环。在每一个附着和脱离的循环中,一个肌球蛋白的头部结合并水解一个 ATP 分子。这样会引起肌球蛋白分子一系列的构象改变,使得肌球蛋白分子头部的顶端沿着肌动蛋白丝朝向正极移动大约 5 nm。由于重复进行 ATP 的水解活动,这种移动方式得以推动肌球蛋白分子沿着肌动蛋白丝朝一个方向运动(图 17-43)。这样一来,肌球蛋白的头部拉动肌动蛋白丝,使之相对于肌球蛋白丝产生滑动。肌球蛋白丝头部牵拉使肌动蛋白丝和肌球蛋白丝之间产生相对的位移,许多肌球蛋白头部这样的一致行动就能引起肌节收缩。一次收缩完成以后,肌球蛋白的头部从肌动蛋白丝上完全脱离下来,肌肉松弛。

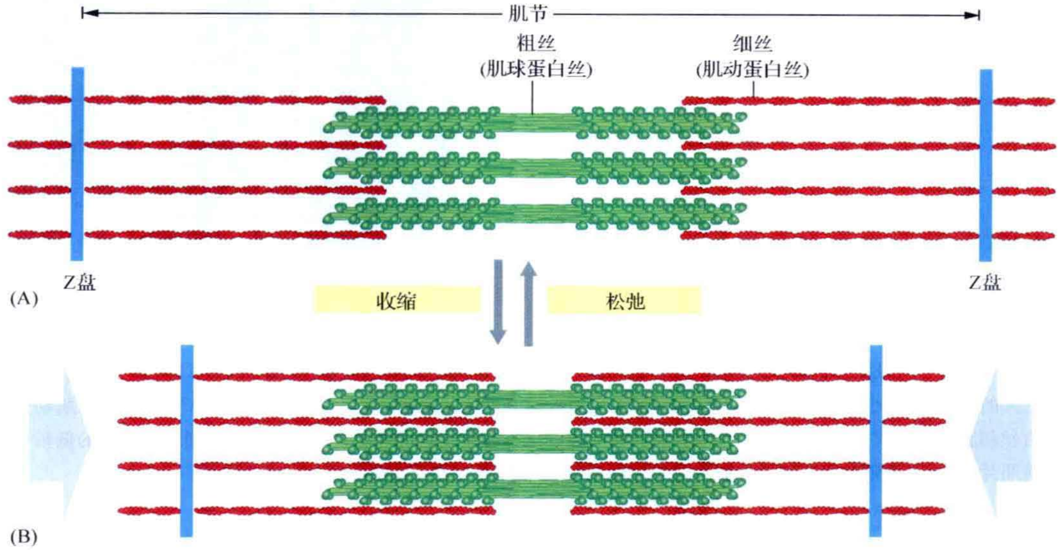


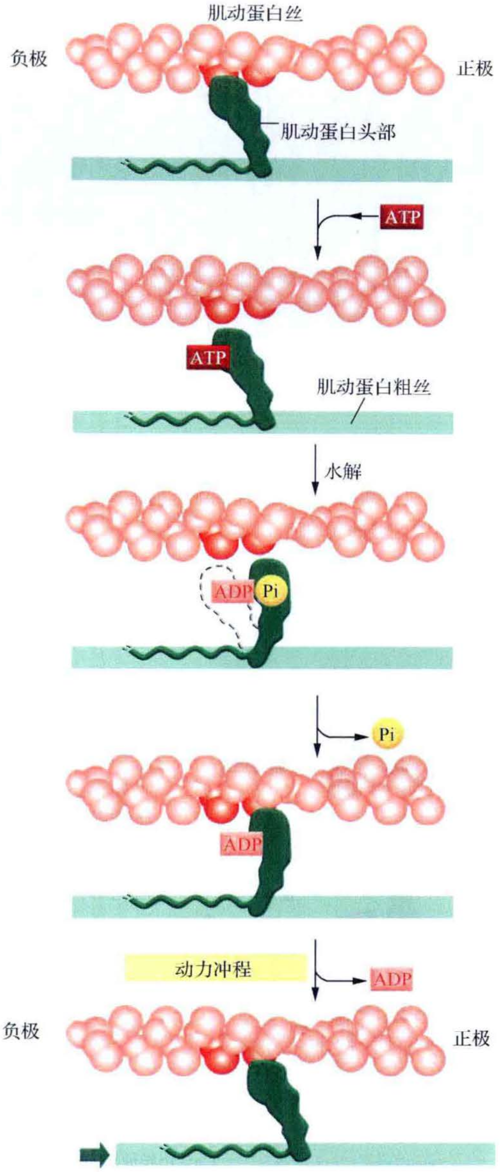
图 17-42 肌肉以滑动丝的机制产生收缩。(A) 一个肌节的肌球蛋白丝和肌动蛋白丝在中线的两侧以同样的极性互相重叠。回忆一下,肌动蛋白丝的正极锚定在 Z 盘上,而肌球蛋白丝是双极性的。(B) 在收缩过程中,肌动蛋白丝和肌球蛋白丝之间相互滑动,但本身并不缩短。滑动是由肌球蛋白的头部在相邻的肌动蛋白丝上朝肌动蛋白丝正极移动所驱动的(视频 17.8)。

每 1 根肌球蛋白丝有大约 300 个肌球蛋白头部。每 1 个肌球蛋白头部每秒可完 5 次成附着和脱离循环,使得肌球蛋白丝和肌动蛋白丝以每秒 15 μm 的速度相互滑动。这样的速度足以使 1 个肌节在 1/10 s 内从完全伸展状态(3 μm)转变为完全收缩状态(2 μm)。由于肌肉中所有的肌节是相互耦合的,并且由信号系统(在下一章详细介绍)在瞬间启动,因此整个肌肉收缩的速度非常快,通常在 1/10 s 之内。

17.4.3 突发性 Ca^{2+} 升高触发肌肉收缩

只有当骨骼肌接受了来自神经系统的信号时,肌动蛋白丝和肌球蛋白丝发生分子间的相互作用。神经末梢的信号在肌细胞膜上触发了一个动作电位(在第 12 章中讨论)。这个电兴奋以毫秒级的速度传播到一系列称为横小管的膜状管子中,这些管子从质膜向内延伸并围绕每一条肌原纤维。电信号随后传递到肌质网中。肌质网是一层相邻的内部相互连接的扁平小泡,好像网眼长筒丝袜一样包围着每一条肌原纤维(图 17-44)。

肌质网是肌细胞中内质网的特化区域。它含有浓度非常高的 Ca^{2+},以此作为对接收到的



黏附 在这张图中，作为周期的开始，一个没有结合三磷酸核苷酸的肌球蛋白的头部以僵直的构象紧密地结合到肌动蛋白丝上(之所以如此描述它是因为这个现象与死后尸体的僵化有关)。在活跃收缩的肌肉中，这个状态是很短暂的，由于和ATP分子的结合而迅速停止。

释放 一个ATP分子结合到头部"背面"的大裂缝中(远离肌动蛋白丝的一侧)，并立刻引起组成肌动蛋白丝结合位点的结构域的构象改变。这个构象的细微改变降低了肌球蛋白头部对肌动蛋白的亲和力，使之能沿着蛋白丝移动。(这里画出的肌球蛋白头部和肌动蛋白之间的空间强调了这一变化。事实上肌球蛋白头部很可能非常接近肌动蛋白。)

翘起 裂缝像蚌壳一样围着ATP分子合拢，触发较大的形状改变，使得肌球蛋白头部沿着蛋白丝移动大约5 nm。ATP发生水解，但产生的ADP和Pi仍紧密地结合在蛋白质上。

力的产生 肌球蛋白头部在肌动蛋白丝上新部位的弱结合导致将ATP水解产生的无机磷酸释放出来，同时头部与肌动蛋白紧密结合。这一释放过程引起动力冲程——在产生力的形态变化期间，头部恢复原来的构象，失去所结合的ADP，从而回到另一循环的初始状态。

黏附 在一个循环的末尾，肌球蛋白的头部再次与肌动蛋白丝以僵直的形状紧密结合。请注意，肌球蛋白的头部现在移动到肌动蛋白丝的一个新位置上。

图 17-43 一个肌球蛋白分子通过结构的周期性变化沿着一根肌动蛋白丝行走。想要了解肌动蛋白和肌球蛋白的运动，请参见视频 17.10。(基于 I. Rayment et al., *Science* 261: 50-58, 1993. 获 AAAS 版权允许)

电兴奋的反应。当肌质网上的离子通道响应跨膜电压的变化而开放时，大量的 Ca^{2+} 通过离子通道被释放到细胞质中(图 17-45)。如在第 16 章中所讨论的那样，在信息从胞外到胞内的传递过程中，Ca^{2+} 被广泛地用作胞内的信号。在肌肉中，Ca^{2+} 与一个分子开关相互作用，这个分子开关由一些与肌动蛋白丝相结合的特殊的辅助蛋白组成(图 17-46A)。辅助蛋白之一是**原肌球蛋白**，它是一个坚挺的棒状分子，结合在肌动蛋白螺旋的沟中，覆盖了 7 个肌动蛋白单体，防止肌球蛋白分子的头部与肌动蛋白丝结合。另一辅助蛋白是**肌钙蛋白**，它是一个蛋白复合物，含有一个和原肌球蛋白末端相连的 Ca^{2+} 敏感蛋白。当细胞质中的 Ca^{2+} 浓度上升时，Ca^{2+} 与肌钙蛋白结合并导致其形状改变。这就引起原肌球蛋白分子轻微地移动位置，让肌球蛋白的头部与肌动蛋白丝结合，从而启动收缩(图 17-46B)。

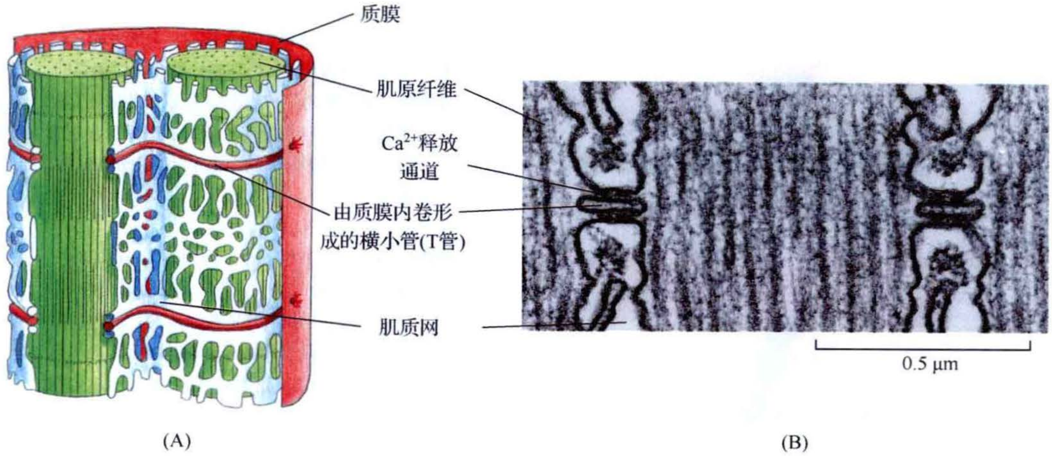


图 17-44　T 管和肌质网围绕在肌纤维周围。(A) 将收缩信号从肌肉细胞的质膜传递到细胞内全部肌原纤维的两种膜系统图解。(B) 电子显微镜照片显示两个 T 管和相邻肌质网区域的横切面。

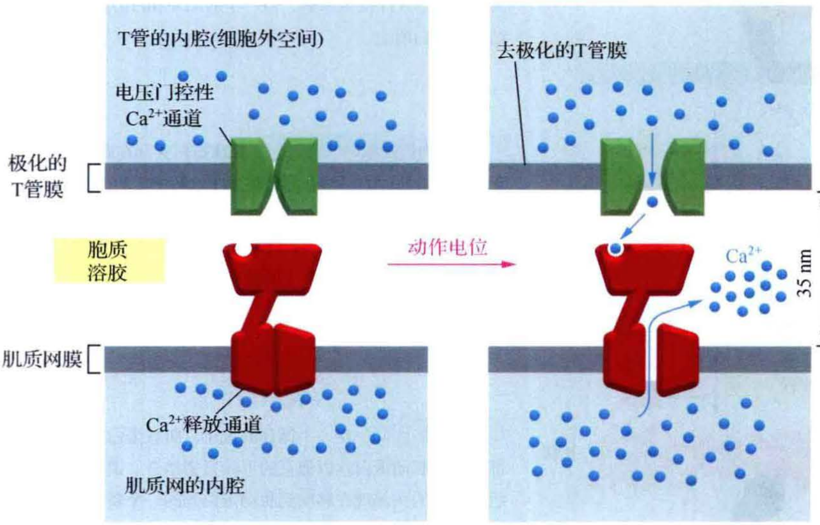


图 17-45　在骨骼肌中，Ca^{2+} 信号参与肌肉收缩。该模式图显示肌质网膜中的 Ca^{2+} 释放通道是如何被认为由相邻 T 管膜上的电压敏感的 Ca^{2+} 通道所开启的。

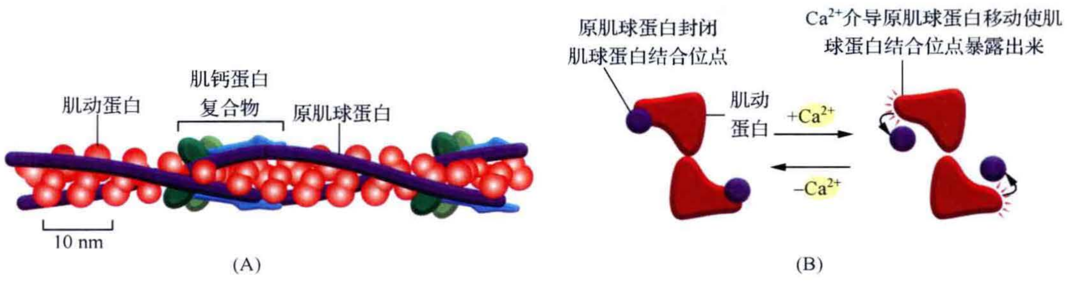


图 17-46　骨骼肌收缩受到肌钙蛋白的控制。(A) 一根肌肉细丝，显示沿肌动蛋白丝上原肌球蛋白和肌钙蛋白的位置。每个原肌球蛋白分子上有 7 个由相同序列组成的等间距的区域，其中每一个区域被认为与一个肌动蛋白单体结合；(B) 当 Ca^{2+} 结合肌钙蛋白后，肌钙蛋白移除原肌球蛋白。否则，原肌球蛋白会阻止肌球蛋白头部与肌动蛋白的相互作用。在这个图例中，两端的圆点代表蛋白细丝。

由于来自质膜的信号在几毫秒以内就传导到细胞内每一个肌节中(通过横小管和肌质网)，

所以细胞内所有的肌原纤维同时收缩。当神经信号停止时，细胞内 Ca^{2+} 就停止增加，因为 Ca^{2+} 迅速地被膜上丰富的 Ca^{2+} 泵抽回到肌质网中去了（在第 12 章中讨论）。一旦 Ca^{2+} 浓度恢复到静息水平，肌钙蛋白和原肌球蛋白回到它们原来的位置，阻止肌球蛋白与肌动蛋白结合，收缩也就终止了。

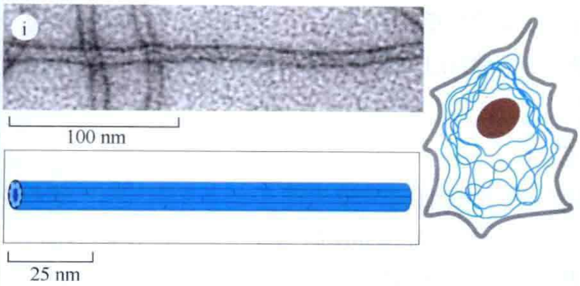
17.4.4 在机体中肌细胞发挥高度特化的功能

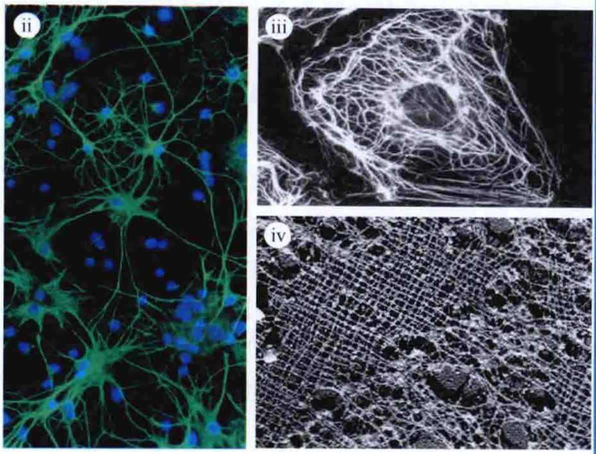
一般认为，肌细胞中高度特化的收缩装置是由所有真核细胞中较为简单的收缩束进化而来的。非肌细胞中的肌球蛋白Ⅱ也是由胞质中的 Ca^{2+} 升高而激活的，但激活的机制十分不同。Ca^{2+} 的增加导致肌球蛋白Ⅱ的磷酸化，从而改变肌球蛋白的构象，使之可以和肌动蛋白相互作用。在平滑肌中也存在类似的激活机制。平滑肌位于胃、肠、子宫和动脉的壁上，也位于需要缓慢而持久的收缩活动的其他结构中。由上述这种模式所产生的收缩较为缓慢，因为酶分子扩散到肌球蛋白分子的头部并引起磷酸化和去磷酸化需要时间。然而，这个机制有它的优越性，因为它缺少专一性，而且可以被多种输入信号所启动：如肾上腺素、5-羟色胺、前列腺素和各种别的胞外信号都可以启动平滑肌的收缩。

除了骨骼肌和平滑肌，其他类型的肌细胞也在机体内发挥了特定的机械功能。最常见的是驱动血液循环的心肌。这个不平凡的器官伴随生物体一生，在人体内自主地收缩达 30 亿次（视频 17.11）。即使是肌动蛋白和肌球蛋白的微小变化也会造成心脏的严重疾病。例如，在肌节中的心肌肌球蛋白和其他收缩性的蛋白质的突变都会引起家族性的肥厚型心肌病。这是造成青年运动员猝死的遗传性疾病。

骨骼肌中的肌节代表了真核细胞细胞骨架基本组分的一个高度特化的用途。在下一章中，我们将要了解细胞骨架如何参与一个对所有细胞来说最为基本的细胞运动，这就是在细胞分裂过程中两个子细胞的形成。

中间丝

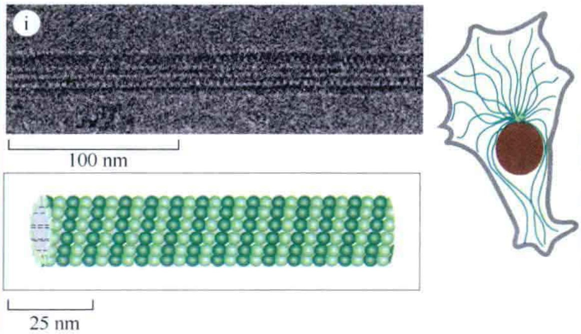


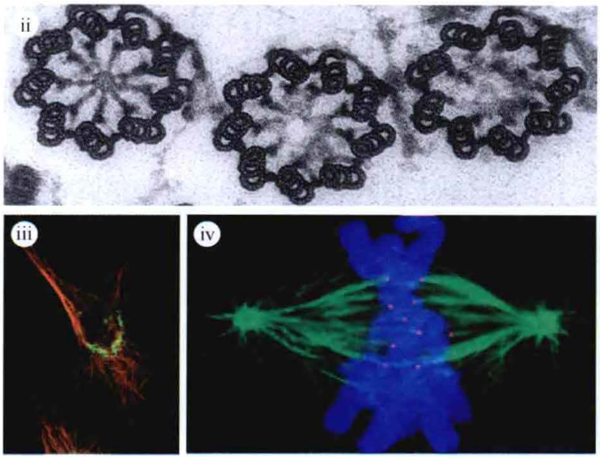


中间丝是直径约10 nm的绳状纤维，它由中间丝蛋白组成，是一个异质性的大家族。有一类中间丝形成的丝状网络被称为核纤层，它紧贴在核膜内侧。其他类型的中间丝遍布于细胞质中，并向细胞提供机械强度。在一个上皮组织中，中间丝横跨细胞质形成细胞之间的连接，因而加固了整个上皮细胞组织。

显微照片蒙以下人员惠许：(i)Roy Quinlan; (ii)Nancy L.kedersha; (iii)Mary Osborn; (iv)Ueli Aebi。

微管

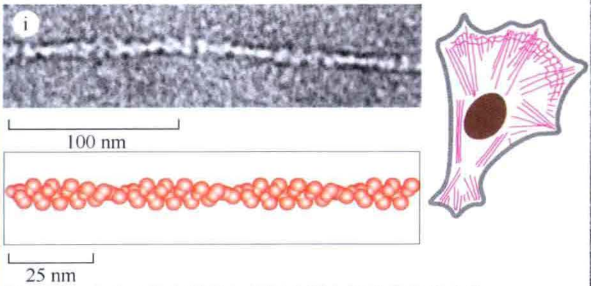


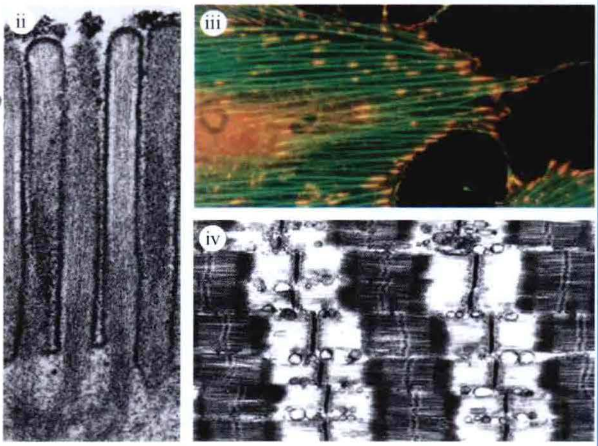


微管是由微管蛋白组成的长而中空的圆柱体。它的外径约为25 nm，比微管蛋白坚挺。微管长而直，通常情况下它的一端结合在一个称为中心体的微管组织中心上。

显微照片蒙以下人员惠许：(i)Richard; (ii)D.T.Woodrum和R.W.Linck; (iii)David Shima; (iv)Arshad Desai。

肌动蛋白丝





肌动蛋白丝（又称为微丝）是肌动蛋白的双螺旋聚合物。它们的结构富有韧性，直径为5~9 nm。肌动蛋白丝组成大量的线性纤维束，既能形成两维的网状结构，又能形成三维的凝胶状结构。尽管肌动蛋白丝分布在整个细胞里，但它们主要集中在皮层，即细胞质膜之下。

图(i)和图(iv)蒙Roger Craig惠许；图(ii)引自P.T. Matsudaira和D.R. Burgess，Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 46: 845-854, 1982，并经Cold Spring Harbor Laboratory Press版权允许；图（iii）蒙Keith Burridge惠许。

- 真核细胞的细胞质由一个以中间丝、微管和肌动蛋白丝所组成的细胞骨架支撑，并由它们在空间上组织细胞质。
- 中间丝是由纤维蛋白形成的稳定的、绳状的聚合体，它使细胞具有机械强度。其中有些位于核被膜之下，形成核纤层，其余的分布在整个细胞质中。
- 微管是由微管蛋白二聚体聚合形成的坚挺、中空的管子。它是极性的结构，有一个缓慢生长的负极和一个迅速生长的正极。
- 像中心体那样，微管在组织中心里先成核再向外生长。微管的负极埋在组织中心里。
- 细胞中大部分微管处于动态的不稳定状态，在伸长状态和缩短状态之间变化。这些被称为动态不稳定性的状态转换是由结合在微管蛋白二聚体上的 GTP 的水解来控制的。
- 每个微管蛋白二聚体都紧密结合一个 GTP 分子。当微管蛋白组装进微管后，这个 GTP 就水解成为 GDP。GTP 的水解减弱了相邻亚基之间的亲和力，降低了聚合体的稳定性，从而导致它的去组装。
- 那些占据了正极的蛋白质可以稳定微管，这个过程影响微管在细胞内的排列。细胞中有许多微管结合蛋白，它们稳定微管，使之与其他细胞组分结合，并控制微管的特定功能。
- 驱动蛋白和动力蛋白都是利用 ATP 水解的能量在微管上作单向运动的马达蛋白。它们运载特殊的膜泡或其他货物，并用这种方式维持细胞质的空间组织。
- 真核细胞的纤毛和鞭毛含有成束的稳定的微管。它们的甩动是由微管的弯曲所造成的。这种弯曲是由被称为纤毛动力蛋白的马达蛋白所驱动的。
- 肌动蛋白丝是肌动蛋白分子的螺旋型聚合体。与微管相比，它们更容易发生弯曲，常常呈束状或网状分布。
- 肌动蛋白丝具有快速生长端和慢速生长端，是极性结构。它的组装和去组装是由紧密结合在每一个肌动蛋白单体上的 ATP 水解所控制的。
- 细胞内肌动蛋白丝的形式和功能的多样性依赖于各种各样的肌动蛋白结合蛋白。这些结合蛋白控制肌动蛋白丝的聚合，将它们交联成松散的网或坚挺的束，使它们附着于质膜，或是驱动它们之间的相对运动。
- 位于质膜之下的密集的肌动蛋白丝网络形成细胞皮层。它决定细胞表面的形状和细胞膜的运动，并与细胞在基质表面的爬行运动有关。
- 肌球蛋白是马达蛋白，它们利用 ATP 水解的能量沿肌动蛋白丝移动。它们能够沿着肌动蛋白丝轨道运载细胞器，或在收缩束中引起相邻的肌动蛋白丝相互间的滑动。
- 在肌肉中，大量肌动蛋白丝和肌球蛋白丝的重叠排列并相互滑动产生收缩。
- 胞质 Ca^{2+} 突然增加引发肌肉收缩，并通过 Ca^{2+} 结合蛋白将信号传递到收缩器中。

关键词

Rho 蛋白家族	肌动蛋白丝	马达蛋白	微管蛋白	中心粒
鞭毛	肌节	片状伪足	细胞骨架	中心体
动力蛋白	肌球蛋白	驱动蛋白	细胞皮层	
动态不稳定性	肌原纤维	丝状伪足	纤毛	
核纤层	极性	微管	中间丝	

问题

问题 17-1 在下列各类细胞中，你认为哪一种有可能在细胞质中含有高密度的中间丝？并作相应解释。

A. 大变形虫(一种自由生活的变形虫)

B. 皮肤的上皮细胞

C. 消化道的平滑肌细胞

D. 大肠杆菌

E. 脊髓中的神经细胞

F. 精子细胞

G. 植物细胞

问题 17-2　你认为为什么将微管蛋白添加到已有的微管上要比从头开始形成微管容易得多？解释中心体内 γ-微管蛋白是如何克服这个障碍的。

问题 17-3　动态不稳定性造成微管迅速伸长或缩短。请设想一条单一的处于缩短状态的微管。

A. 如果它要停止缩短并进入伸长状态，它的末端必须发生什么变化？

B. 发生这一转换后微管蛋白的浓度有什么变化？

C. 如果溶液中只有 GDP 而没有 GTP，将会发生什么情况？

D. 如果溶液中 GTP 的类似物不能被水解，将会发生什么情况？

问题 17-4　纤毛中动力蛋白臂的排列方式使之在被激活时头部将其相邻的外侧二联体朝纤毛的顶端向外推。请设想一根纤毛的横切面(图 17-26)。如果所有的动力蛋白分子同时被激活，为什么纤毛反而不能产生弯曲运动？动力蛋白什么样的活动方式能够解决纤毛的单向弯曲？

问题 17-5　细胞质中肌动蛋白丝的形成受肌动蛋白结合蛋白控制。某些肌动蛋白结合蛋白能显著提高肌动蛋白丝开始形成的速率。请假设一种可能的机制。

问题 17-6　假设在一个体外培养的皮肤细胞中，10 000 个肌动蛋白分子中的 1 个分子被随机加上荧光标记。那么，假如你用荧光显微镜观察这个细胞片状伪足的前端，你能看到什么现象？假设你的荧光显微镜足够灵敏能检测到单个荧光分子。

问题 17-7　在一个爬行细胞的前端，肌动蛋白丝的正极锚定在细胞膜附近，肌动蛋白单体加到正极上，推动细胞膜向外突出形成片状伪足或丝状伪足。请你设想在另一极是什么支持肌动蛋白纤维丝并防止它们挤入到细胞内部？

问题 17-8　假如肌肉中的肌球蛋白丝(粗丝)和肌动蛋白丝(细丝)组成的亚基均由较弱的共价键相连，那么这样的话，一个人能否举起重物？

问题 17-9　请比较中间丝和骨骼肌细胞中肌球蛋白丝 Ⅱ 的结构。它们的主要相同之处是什么？主要的不同之处是什么？结构上的差异与它们的功能有何联系？

问题 17-10　A. 在图 17-46 中，肌钙蛋白分子以相同间距分布在肌动蛋白丝上，每隔 7 个肌动蛋白分子有 1 个肌钙蛋白分子。请问，你如何解释肌钙蛋白规律分布的原因。从中你能得到有关肌钙蛋白和肌动蛋白丝结合的什么信息？

B. 请问，如果你将肌动蛋白丝分别与下列各成分混合将发生什么情况？(a)和肌钙蛋白分子，(b)和原肌球蛋白，或(c)将原肌球蛋白和肌钙蛋白混合，然后加入肌球蛋白。这些效应是否可能依赖 Ca^{2+}？

问题 17-11　下面的说法中哪一种是正确的？请作出相应解释。

A. 驱动蛋白沿着微管推动内质网运动，从而使内质网遍布在细胞内。

B. 如果没有肌动蛋白，细胞能够形成有功能的纺锤体并将染色体拉开，但细胞不能分裂。

C. 丝状伪足和片状伪足是细胞伸出的“感觉器”，用于探测将要在其上爬行的支持物表面的锚定点。

D. GTP 被微管蛋白水解，造成鞭毛的弯曲。

E. 细胞中的中间丝网络如果不能解聚的话，细胞就会死亡。

F. 微管的正极生长得较快，因为它们有较大的 GTP 帽。

G. 肌细胞中的 T 管是细胞质膜的延伸物，因为它和细胞膜是连续的。同样地，肌质网是内质网的延伸物。

H. 在某些情况下，肌钙蛋白的磷酸化启动肌球蛋白在肌动蛋白丝上运动，而在另一些情况下这个运动是通过 Ca^{2+} 与肌钙蛋白的结合而启动的。

问题 17-12　一个分子或细胞器扩散一定的距离(x cm)所需的平均时间可由下式求得

$$t = x^2/2D$$

式中，t 以秒为单位；D 是常数，称为分子或颗粒的扩散系数。利用上述公式，请计算一个小分子、一个蛋白质分子以及一个膜泡从一个直径为 10 μm 细胞的一侧扩散到另一侧所需的时间。以 cm^2/s 为单位的典型的扩散系数为：小分子 5×10^{-6}，蛋白质分子 5×10^{-7}，膜泡 5×10^{-8}。一个膜泡以自由扩散方式到达 10 cm 长轴突的顶端需要多长时间？

问题 17-13 为什么真核细胞特别是动物细胞会有巨大而复杂的细胞骨架？请列举动物细胞与细菌对细胞骨架依赖性之间的差别。

问题 17-14 请仔细观察图 17-3 所画的中间丝的结构。这种丝有没有独特的极性，即你能不能从化学结构或其他方法把一端和另一端区分开来？对你的回答作出相应解释。

问题 17-15 目前还没有已知的马达蛋白是在中间丝上移动的。你能对此作出解释吗？

问题 17-16 当细胞进入有丝分裂时，它们原来的胞质微管必须迅速解聚，取而代之的是将染色体拉向子细胞的纺锤体。以日本武士的短剑命名的酶——剑蛋白在有丝分裂开始时被激活，并将微管切成短片。请假设剑蛋白所产生的微管短片段的命运，并对你的回答作出解释。

问题 17-17 从紫杉树皮中提取的药物紫杉醇具有和秋水仙素（一种从秋水仙中提取的生物碱）相反的作用。紫杉醇与微管紧密结合，并使之稳定。当用它处理细胞时，造成更多游离的微管蛋白被组装成微管。相反，秋水仙素防止微管的形成。紫杉醇和秋水仙素一样对分裂细胞是致命的，两者都用作抗癌药。请根据你对微管动力学的知识，解释为什么这两种药物尽管作用机理不同却都对分裂的细胞产生毒性？

问题 17-18 研究微管马达蛋白的常用技术是将马达蛋白的尾部黏着在盖玻片上（这一点很容易做到，因为马达蛋白的尾部很容易附着在干净的玻璃表面上），从而使微管附着于其上。当微管被马达蛋白的头部推动而在盖玻片表面移动时，可以用光学显微镜来观察。但是，由于马达蛋白在盖玻片上黏着的方向是随机的，它们如何才能产生协调单根微管的移动而不变成“拔河”呢？如果微管蛋白位于由驱动蛋白分子构成的“床”上，那么它又将以什么方向爬行（正极朝前，还是负极朝前）？

问题 17-19 图 Q17-19 是纯化的微管蛋白形成微管的典型的时间曲线。

A. 请解释曲线的不同部分（标为 A、B 和 C 区），并作图说明处于这三个阶段时微管蛋白分子的行为。

B. 如果一开始就加入中心体，曲线的形状将会有什么改变？

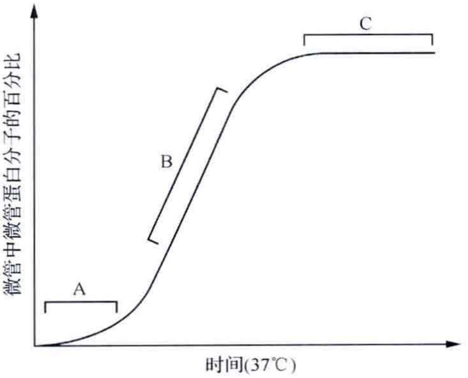


图 Q17-19

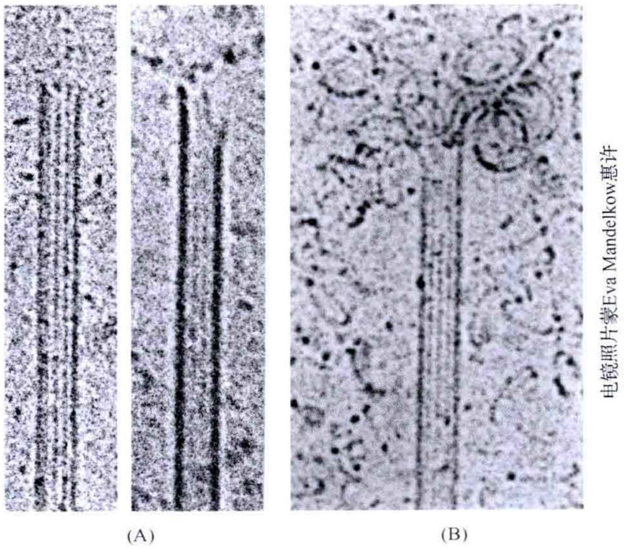


图 Q17-20

问题 17-20 图 Q17-20A 是迅速生长的微管的电子显微镜照片。图 17-20B 是“灾难性”缩短的微管的电镜照片。请评述图 A 和图 B 中任何的不同点，并对此作出相应解释。

问题 17-21 培养中的成纤维细胞的迁移在加入细胞松弛素后会立即停止，而秋水仙素可减缓成纤维细胞某个方向上的运动，继而在任意方向上随机伸出片状伪足。将波形蛋白(vimentin)的抗体注射到成纤维细胞内对其迁移不造成任何影响。根据上述现象，请你谈谈这三种细胞骨架丝在成纤维细胞迁移中的作用？

问题 17-22 选择下列短语，正确完成句子。并请说出你选用或不选用每一个短语的理由。肌肉收缩时钙离子的作用是：

A. 将肌球蛋白头部从肌动蛋白上脱离下来。

B. 将动作电位从质膜传播到收缩装置。

C. 与肌钙蛋白结合，使之移动原肌球蛋白，因而将肌动蛋白丝暴露给肌球蛋白头部。

D. 维持肌球蛋白丝的结构。

问题 17-23 当骨骼肌细胞收缩时，下列哪一种变化会发生？

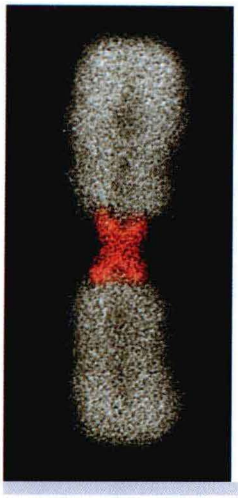
A. Z 盘反向移动使间距扩大。

B. 肌动蛋白丝收缩。

C. 肌球蛋白丝收缩。

D. 肌节变短。

（陈跃磊　译）



18 细胞分裂周期概述

18.1 细胞分裂周期
18.2 细胞周期控制系统
18.3 S期
18.4 M期
18.5 有丝分裂
18.6 胞质分裂
18.7 细胞数量和细胞大小的控制

18.1 细胞分裂周期

"细胞来自于细胞，就好像动物来自于动物，植物来自于植物一样。"1858年由德国病理学家Rudolf Virchow提出的这一细胞学说包括了生命连续性的深刻含义。细胞来自于细胞，产生更多细胞的唯一途径是已存在细胞的分裂。所有生物，包括从单细胞的细菌到多细胞的哺乳动物，都是上溯至30亿年前生命起源后连续不断的细胞生长与分裂的结果。

细胞通过进行一系列有序的事件而完成繁殖。这些事件中，细胞复制它的内含物，然后分为两份。这一复制和分裂的周期，称为**细胞周期**，是生物繁殖的必要机制。细胞周期的细节随不同生物而异，在同一生物的不同时期也不相同。在单细胞生物如细菌和酵母中，每一次细胞分裂都产生一个完整的新生物，而从一个受精卵发育成为一个新的多细胞生物则需要许多次的细胞分裂。然而细胞周期的某些特征是一致的，如它们由每个细胞执行它们最基本的任务——拷贝遗传信息并将其传至下一代细胞。为了产生两个遗传上等同的子细胞，每个染色体上的DNA必须被忠实地复制，而后被复制的染色体必须被精确地分配或分离至两个子细胞，这样每个子细胞就得到一份完整的基因组拷贝(图18-1)。很多细胞也复制它们别的大分子和细胞器，细胞在分裂之前将体积增加1倍，否则每次分裂后它们会变小。这样，为了保持它们的大小，正在分裂的细胞必须协调它们的生长与分裂。

为了阐明细胞是如何繁殖的，我们必须考虑以下三个主要问题：①细胞如何复制它的内含物；②它们如何分配复制好的内含物并分裂为二；③它们如何协调上述两个过程必需的所有机器。第一个问题在本书的别处讨论：在第6章中已讨论了DNA是如何复制的；在第7、11、15和17章中，我们描述了真核生物如何制造其他成分如蛋白质、膜、细胞器和细胞骨架纤维。在本章中，我们涉及第二个和第三个问题：真核细胞是如何分开其复制的内容来产生出两个子细胞，它们又是如何把其增殖周期中不同的步骤协调起来。

我们以细胞周期中发生的事情的概述开始。然后，我们叙述调节蛋白的复杂系统——细胞周期控制系统——是如何指令和协调这些活动，以确保它们按正确的顺序进行。接下来我们详

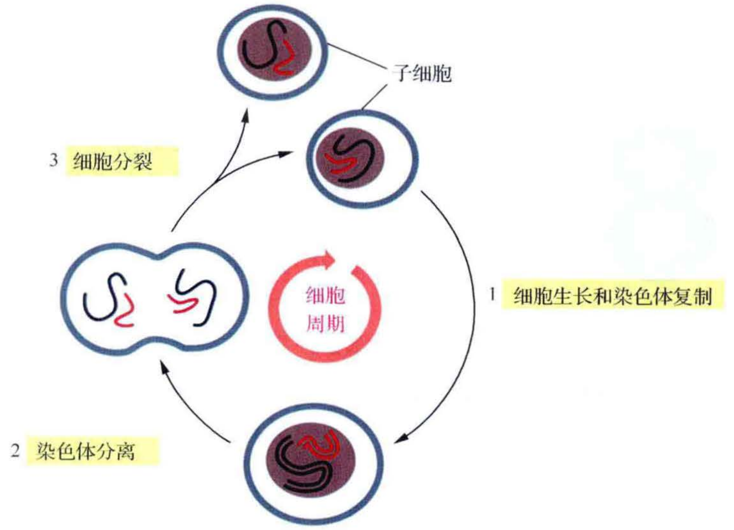


图 18-1 细胞通过复制其内含物并分裂成两个细胞来进行增殖，这一过程称为细胞分裂周期，或细胞周期。图示假设的带有两个染色体的真核细胞的分裂，以说明每个细胞周期产生了两个遗传上相同的子细胞。每个子细胞通过另一个细胞周期再次分裂。

细讨论细胞周期的主要阶段，在这个阶段中染色体复制，然后分开进入到两个子细胞中。在本章的最后，我们考虑动物如何调节细胞的大小和数量，及其个体和器官的大小：我们叙述动物如何依靠被称为*细胞凋亡*的一种程序性细胞死亡的形式来排除多余的细胞，然后我们讨论它们如何使用胞外信号来控制细胞的存活、细胞生长和细胞分裂。

18.1.1 细胞周期概述

细胞周期最基础的作用是准确地复制染色体中大量的 DNA，然后将这些复制品分配到遗传上相同的子细胞中。细胞周期的持续时间在不同类型细胞间变化很大。在理想条件下，一个单细胞酵母大约每两个小时分裂一次，而一个哺乳动物肝细胞平均一年分裂不到一次（表 18-1）。这里我们简单叙述在快速进行的哺乳动物细胞分裂（增殖）中所发生事件的顺序。然后，我们介绍确保周期的各种活动以正确的顺序并在正确的时间进行的细胞周期控制系统。

表 18-1 一些真核细胞的细胞周期

细胞类型	细胞周期
早期蛙胚胎细胞	30 min
酵母细胞	1.5～3 h
哺乳类肠上皮细胞	约 12 h
培养的哺乳类成纤维细胞	约 20 h
人肝细胞	约 1 年

18.1.2 真核细胞周期可分为四期

在显微镜下所见的细胞周期的两个最大的事件是当核分裂时称为*有丝分裂*的过程，和当细胞一分为二时称为胞质分裂的过程，这两个过程一起组成细胞周期的 **M 期**。一个典型的哺乳动物细胞中，整个 M 期约占 1 h，这只是全部细胞周期的一小部分。

在一个 M 期与下一个 M 期之间的间隔称为**间期**。显微镜下，此时细胞从表面看来只增加细胞大小而无任何事件发生。其实不然，间期是细胞的一个非常繁忙的时期，它包括细胞周期的其他三个期。在 **S 期**（S＝synthesis，意即合成）细胞复制核 DNA，这是细胞分裂的必要前提，S 期的前后分别是两个细胞继续生长的时期。其中 **G_1 期**（G＝gap，意即间隙）是 M 期完成之后

S 期（DNA 合成）开始之前的一段时间，而 **G_2 期**则是 S 期完成之后 M 期开始之前的一段时间（图 18-2）。在这些间隙期，细胞监测内部和外部环境以确保在决定进入 S 期和有丝分裂这一重大变动之前周围条件合适，并且确保细胞自身的准备工作也是充分的。在 G_1 期和 G_2 期中还有一些特定的时间点，此时细胞需作出决定是推进到下一个时期还是暂停一下以便有更多的时间去准备。

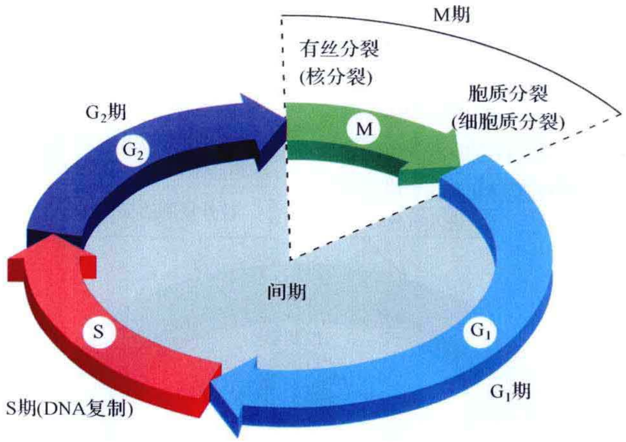


图 18-2　细胞周期分成四个时期。细胞在由三个时期组成的间期不断生长。间期分为：G_1 期，S 期和 G_2 期。DNA 的复制限制于 S 期。G_1 期是 M 期和 S 期的间隔，G_2 期是 S 期和 M 期的间隔。在 M 期，细胞核首先在有丝分裂过程中分裂，然后在胞质分裂过程中细胞质分裂。

在整个间期中，细胞通常不断地转录基因、合成蛋白质和增大体积。G_1 期和 G_2 期一起为细胞生长和胞质细胞器复制提供了更多的时间。如果间期的时间仅够 DNA 复制的话，细胞就没有时间在其分裂之前倍增体积，从而导致它在每次分裂后体积缩小。事实上，某些特殊条件下这种情况是会发生的，例如，在某些动物胚胎中，受精后的最初几次分裂（称为卵裂）只是尽可能快地把一个巨大的卵细胞变为许多更小的细胞。在这些胚胎细胞周期中，G_1 期和 G_2 期大大缩短，分裂前细胞不再生长。

随着 DNA 在 S 期的复制，每个染色体遗传物质的两个拷贝紧密地束缚在一起。细胞将进入 M 期的第一个迹象是其染色体的逐渐*浓缩*。浓缩进行时，复制的染色体首次变为光镜下可见的长线状，后来逐渐变短、变粗。这一浓缩使这些染色体不易互相缠绕，因此在有丝分裂时比较易于分开进入到两个形成的子细胞中。

18.1.3　一个中央控制系统启动细胞周期的主要进程

为了确保它们复制了所有的 DNA 和细胞器，并且按有序的方式分开，真核细胞具有一个复杂的调控蛋白质网络，称为*细胞周期控制系统*。这个系统保障细胞周期的进程——DNA 复制和有丝分裂等——按一定程序进行，且每个步骤都在下一个步骤开始前完成。为了实现这些，这个控制系统在其中的某些关键点上亦通过正在运行的进程的反馈而自我调节。如果没有这种反馈，任何一个步骤的中断或延误将产生灾难性的后果。比如说在核分裂前，必须确保核内所有 DNA 都复制完备，即在 S 期完成后才能启动 M 期。若 DNA 复制减速或停止，有丝分裂及胞质分裂也应随之延迟。与此相似，如果 DNA 受损了，周期必然会在 G_1、S 或 G_2 期受阻，让细胞在 DNA 复制之前或之后，或是在细胞到达 M 期之前修复损伤。细胞周期控制系统通过能在各种关卡处中止细胞周期的分子制动器，即**控制点**来实现这些功能。通过这种方式，除非细胞已经完全准备好，否则控制系统不会启动下一个步骤。

图 18-3 阐述了在细胞周期中的这三个控制点。第一个控制点在 G_1 进行，允许细胞在进入 S 期之前证实环境有利于细胞的增殖。动物细胞增殖需要在外界环境中有充足的营养和特殊的信号：如果外界状况不适宜，那么细胞会延迟进入 G_1 期，甚至可能进入像目前所知的 G_0（G 零）这样的特殊静止状态。许多细胞包括神经细胞和骨骼肌细胞在整个生命周期都停滞在静止期。另一个控制点在 G_2 期进行，确保直到损伤的 DNA 已经修复且 DNA 的复制已经完成，细

胞才进入有丝分裂。第三个控制点在有丝分裂阶段,在纺锤丝牵移染色体分开并且把它们分配到两个子细胞中之前,确保复制的染色体准确地连到被称之为纺锤体的细胞骨架上。

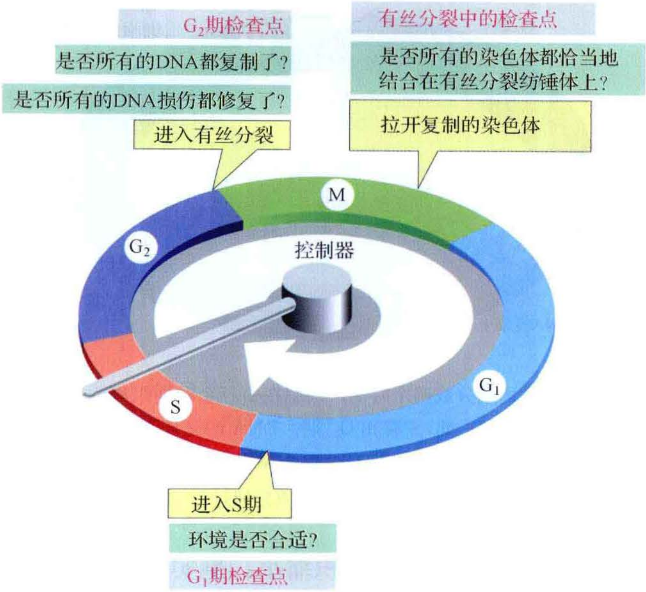


图 18-3 细胞周期控制系统中的检查点确保周期中的关键过程按正确顺序进行。图示细胞周期控制系统像一个顺时针的控制臂,当到达外圈的特殊点时触发基础的过程。这些过程包括S期的DNA复制和有丝分裂期的重复的染色体分离。细胞周期中胞内活动的反馈,以及来自细胞周围环境的信号,决定细胞周期是否继续运转通过检查点。这里标示了三个关键的检查点:G_1 期的检查点决定了细胞是否能进入S期;G_2 期的一个检查点决定了细胞是否进入有丝分裂期;另一个M期的检查点则决定细胞是否已经准备好拉开重复的染色体并把它们分到两个新的子细胞中。

在 G_1 期的控制点尤其重要,它是在细胞周期中控制系统能够根据来自其他细胞的信号进行调节的一个点。在多细胞动物中,当需要更多细胞时,控制系统对来自其他细胞的促进分裂的信号高度灵敏,而当不需要时封闭它。因此控制系统在身体组织中细胞数量的控制上扮演了重要的角色:如果这个系统功能失调,那么细胞会过度分裂,从而导致癌变。下面我们将看到胞外信号是如何影响这个控制点的决定的。

18.1.4 细胞周期控制在所有真核细胞中都是类似的

细胞周期的一些特征在一种细胞与另一种细胞之间,甚至在同样的生物体之间的变化很大,比如完成某些过程需要的时间,但是周期的基本结构在所有的真核细胞中大致相同,所有的真核细胞显示了使用类似的机制和控制体系来促使和控制细胞周期的活动。细胞周期控制系统中的蛋白质首先出现在十亿年前,它们在进化期间被很好地保存下来,以至它们中的大部分组分可以在人类细胞和酵母中互换并工作得很好(见"我们如何得知")。

正是因为这些相似点,生物学家能够在各种生物中学习细胞周期以及它的调控,并用所有研究结果来组合出真核细胞是怎样分裂的图像。很多有关细胞周期的发现来自于系统地寻找酵母中使细胞周期控制系统的基本组分失活的突变体。研究培养的哺乳动物细胞和动物胚胎对考查支配多细胞生物的细胞增殖调控分子机制也非常有用。

18.2 细胞周期控制系统

细胞分裂需要两种机制:一种机制是制造生长着的细胞的新成分,另一种机制是在细胞一分为二时将这些新成分运输到恰当的位置,并作适当的分配。**细胞周期控制系统**在正确的时间转换所有体系的开和关,因此协调了周期中的很多步骤。细胞周期控制系统的核心是一系列生化开关。它们按准确顺序运行,协调周期中主要事件,包括DNA复制和复制的染色体的分离。本章我们回顾细胞周期控制系统的蛋白质组分,然后讨论它们是如何协同作用、启动细胞周期不同步骤的。

18.2.1 细胞周期控制系统依赖于周期性激活的蛋白激酶(称为 Cdk)

细胞周期控制系统通过周期性激活随后关闭关键蛋白质和调节 DNA 复制、有丝分裂及胞质分裂的蛋白质复合物来调控细胞周期机器。如第 4 章所述,磷酸化反应以及随之而来的去磷酸化反应是一种细胞用来改变蛋白质活性开或关的最通用的方法(图 4-38),细胞周期控制系统反复使用这个办法。控制细胞周期的磷酸化反应由一类特殊的蛋白激酶催化,而去磷酸化反应由一类蛋白磷酸酶执行。

在整个细胞周期中,细胞周期控制系统核心的蛋白激酶存在于增殖细胞中。然而,它们只在周期的某一特定时间活化,随后又很快失活。因此,每一种蛋白激酶的活性呈周期性的升降。比如,某些蛋白激酶在 G_1 末期活化,对细胞进入 S 期是必需的;而另一些激酶则在 M 期前活化,可驱动细胞进入有丝分裂。

在适当的时候活化或失活这些激酶在一定程度上是控制系统的另一类蛋白质——**细胞周期蛋白**的作用。细胞周期蛋白自身并无酶活性,但它们与激酶的结合是后者发挥酶活性所必需的,因此,细胞周期控制系统的蛋白激酶也称为**细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶**或 **Cdk**(图 18-4)。细胞周期蛋白之所以得名,是因为它们的浓度在细胞周期的各时期呈周期性升降(这一点与 Cdk 不同)。细胞周期蛋白浓度的周期性改变帮助促进细胞周期蛋白——Cdk 复合物的周期性聚合激活;这些复合物的激活接下来启动了各种细胞周期事件,例如,进入 S 期或 M 期(图 18-5)。在"我们如何得知"中,我们讨论了 Cdk 和细胞周期蛋白是如何被发现的。

图 18-4 细胞周期的进展过程依靠细胞周期蛋白激酶(Cdk 复合物)。一个 Cdk 在具有酶活性之前必须与细胞周期蛋白结合。激活的细胞周期蛋白-Cdk 复合物磷酸化细胞中关键的蛋白质,它们对启动细胞周期的特殊阶段是必需的。细胞周期蛋白同时有助于指引 Cdk 到它将要磷酸化的蛋白质那里去。

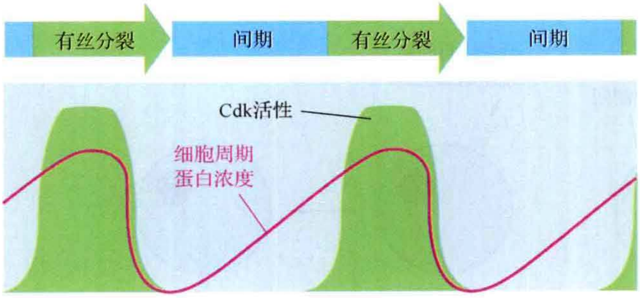


图 18-5 细胞周期蛋白的积累调控 Cdk 复合物的活性。细胞周期蛋白激酶复合物的形成驱动多个细胞周期事件,包括进入 S 期和 M 期。图上显示了细胞周期蛋白浓度和 Cdk 活性的改变对进入 M 期起作用。细胞周期蛋白浓度的增长有助于形成细胞周期蛋白-Cdk 复合物,它促使细胞进入 M 期。尽管细胞周期蛋白-Cdk 复合物的酶活性在细胞周期的过程中上升或下降,Cdk 成分的浓度不变(没有显示)。

我们如何得知:细胞周期蛋白和 Cdk 的发现

尽管细胞生物学家们在许多年前就注视着 DNA 合成、有丝分裂及细胞质分裂等的"木偶表演",但对于是什么在幕后控制这些事件却一无所知。细胞周期控制系统在当时仅是细胞研究中的一个"黑箱",人们甚至不清楚是否存在着这样一个控制系统,亦不知细胞周期机构是否能自身调控。后来的细胞生物学家发现了控制系统中的一些关键蛋白质,并认识到它们不同于那些细胞周期机构中的组分——如完成 DNA 复制、染色体分离等必要过程的酶和蛋白质,细胞周期控制系统的概念才得以提出,对它的研究也借此获得了突破。

细胞周期控制系统中被发现的第一个成分是细胞周期蛋白和细胞周期蛋白依赖的激酶(Cdk)，它们促使细胞进入M期。它们是在研究动物卵子的细胞分裂行为时被发现的。

回到卵子

许多动物的受精卵特别大，而且分裂迅速，所以非常适合于细胞周期的生化研究。例如，爪蟾卵的直径略大于1 mm(图18-6)。受精后，它迅速分裂将卵子分割成很多更小的细胞。这种快速分裂的细胞其周期仅由S期和M期组成，两者之间几乎没有G_1和G_2期。这样的细胞周期中没有新的基因转录：当在母体卵巢中卵母细胞发育时，卵子已经合成并储存了受精后早期胚胎发育过程中所需要的所有mRNA及大部分蛋白质。在这些早期的分裂周期(称为卵裂分裂)中不出现细胞生长，而且胚胎中所有的细胞呈现同步分裂。

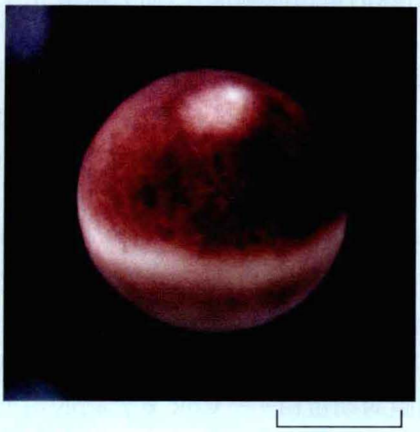


图18-6 一个成熟的爪蟾卵为研究细胞分裂提供了方便的系统。(蒙Tony Mills惠许)

由于同步，因而可以制备蛙卵中代表细胞周期某一阶段的胞质提取物。然后将抽提物注射到爪蟾卵母细胞(受精卵的未成熟前体)中，并在显微镜下观察其对细胞周期行为的影响。爪蟾卵母细胞是用于探索驱动细胞进入M期的活性物质的特别简便的检测系统，因为它非常大，已经完成DNA复制，且停滞在减数分裂周期(详见19章)的一个相当于有丝分裂G_2期的时间点上。

给我们一个M

在上述的实验中，研究人员发现处于M期卵的提取物能促使卵母细胞立即进入M期，而处于分裂卵的其他周期时相的胞质提取物则无此活性。研究之初，对有这种活性的因子的生化本质及其作用机制毫无了解，因此只是简单地称之为成熟期促进因子或MPF(图18-7)。检测不同细胞周期时相的细胞质，发现MPF的活性在细胞周期的不同时相呈剧烈的变化：在有丝分裂开始前活性快速升高，而到有丝分裂期末时则快速降为零(图18-8)。这个变化使MPF成为在细胞周期控制中的组分的强有力的候选者。

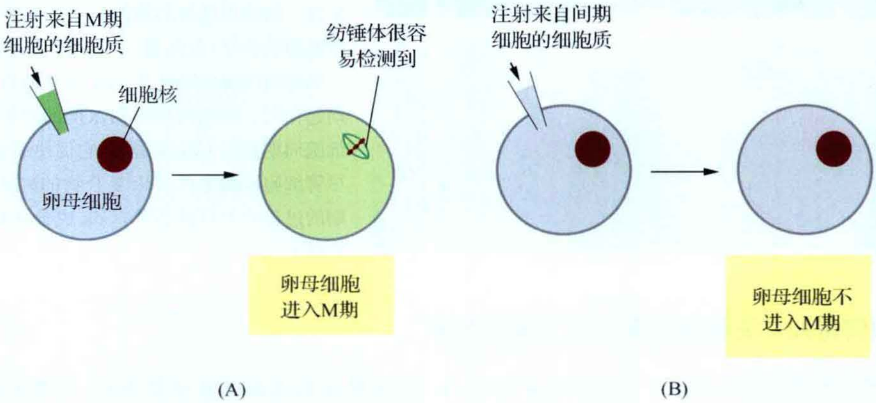


图18-7 MPF活动是通过注射爪蟾卵细胞质到爪蟾卵母细胞中发现的。(A)来自M期爪蟾卵的细胞质注射到爪蟾卵母细胞。这个细胞提取物促进卵母细胞进入到第一次减数分裂的M期，使它的大细胞核破裂，形成纺锤体；(B)当细胞质取自在间期的分裂的卵时，它不会使卵母细胞进入M期。因此，(A)中的提取物必定包含一些活性——一个成熟促进因子(MPF)——它触发了细胞进入M期。

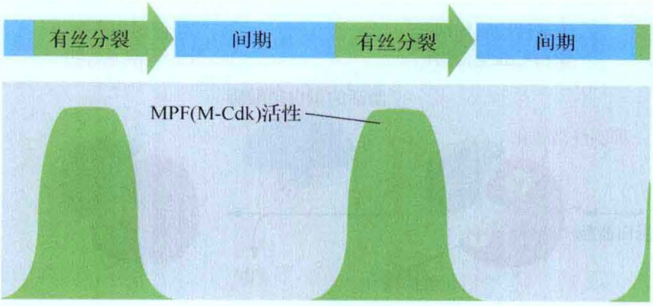


图 18-8 MPF 的活性在爪蟾胚胎的细胞周期振荡。这个活性用图 18-7 中概述的测试方法来检测，发现它在有丝分裂开始前才急速上升，伴随着有丝分裂的结束而迅速下降到零。

当 MPF 最后被纯化后，发现其中含有一种为其活性所必需的蛋白激酶。然而 MPF 中的蛋白激酶不能单独起作用。如前所述，为发挥作用它必须与特定的蛋白质相结合(现在知道是 M 细胞周期蛋白)。M 细胞周期蛋白是通过各种不同的实验发现的，包括用蛤卵。

在蛤中钓鱼

M 期细胞周期蛋白最初被认定为是一种在间期浓度逐渐上升，然后当卵裂期蛤卵经过 M 期时迅速降到零的蛋白质(图 18-5)。这种蛋白质在每个细胞周期重复着这种行为。尽管如此，在细胞周期控制中，它的作用最初是不清楚的。当细胞周期蛋白被发现是 MPF 的一部分，而且 MPF 的活性依赖于这种蛋白时有了重要突破。因此，我们现在称为 M-Cdk 的 MPF 是一个包含了两个亚基的蛋白质——一个调节亚基是 M 期蛋白，一个催化亚基是有丝分裂 Cdk。当 M-Cdk 的成分被识别之后，其他种类的细胞周期蛋白和 Cdk 被分离，它们的浓度或活性各自在细胞周期的其他阶段上升和下降。

家庭中的所有成员

当生物化学家在蛙卵及蛤卵中研究细胞周期的调控蛋白时，酵母遗传学家则利用另一条途径来解析周期控制系统。在研究那些在细胞周期的特定点被阻断或功能失常的突变体时，研究人员识别出很多负责细胞周期控制的基因。有些基因被证明编码细胞周期蛋白及 Cdk，而且无论从氨基酸序列或是编码产物功能上，它们都与蛙及蛤中的同源物相似。不久在人细胞中也鉴定了相似的基因。

在进化过程中，许多周期控制基因变化很小，以致人源基因在酵母细胞中可以很好地起作用。例如，一株酵母带有编码其唯一 *Cdk* 基因的一个缺陷拷贝因而不能分裂，但是，如果将人源的正常同源基因人工导入突变细胞，突变体将正常分裂。即使是达尔文也会惊诧于如此确凿的人与酵母是堂兄弟的证据：虽然经过亿万年的发散性进化，所有的真核生物——不管是酵母、动物或植物都用同一套分子来控制细胞周期。

18.2.2 Cdk 的活性也受磷酸化和去磷酸化所调节

细胞周期蛋白水平的升高和降低在细胞周期中调节 Cdk 活性上充当了一个重要部分，但还有更多要说的故事。细胞周期蛋白的浓度是逐渐增加的，但相关的细胞周期蛋白-Cdk 复合物的活性趋向于在细胞周期的适宜时间突然启动(图 18-5)。所以是什么引发了这些复合物的突发活性？如果一个细胞周期蛋白-Cdk 非常活跃，这个 Cdk 必须在一个地方被一个特殊的蛋白激酶磷酸化，并在其他地方被一个特殊的蛋白磷酸酶去磷酸化(图 18-9)。后面我们将讨论这些激酶和磷酸酶是怎样调节专一的细胞周期蛋白-Cdk 的活性，从而控制细胞周期的进程。

18.2.3 各种细胞周期蛋白-Cdk 复合物启动细胞周期的不同步骤

细胞周期蛋白有好几类，而在大部分真核细胞中有好几类 Cdk，它们都参与细胞周期的调控。不同的细胞周期蛋白-Cdk 复合物启动细胞周期中的不同事件。在 G_2 期发挥作用启动进入 M 期的细胞周期蛋白称作 M **期细胞周期蛋白**，而由它和相应的 Cdk 构成的活化的复合物被称为 **M-Cdk**。独特的细胞周期蛋白——**S 期细胞周期蛋白**和 **G_1/S 期细胞周期蛋白**，在 G_1 后期

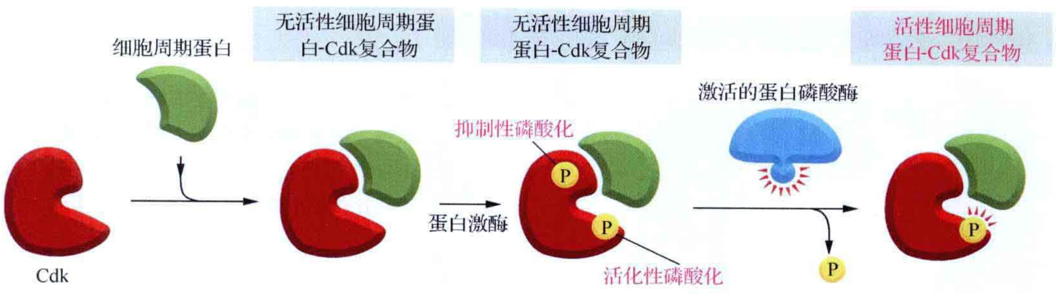


图 18-9　为了激活 Cdk，它必须在一个位点磷酸化，并在其他两个位点去磷酸化。当它第一次形成时，细胞周期蛋白-Cdk 复合物没有磷酸化，是非活化的。随后，Cdk 在一个活性必需的位点以及其他两个地方抑制它的活性的位点被磷酸化。这个磷酸化复合物保持非活化状态直到它最终被一个磷酸除去两个抑制性磷酸基团。为方便起见，这里只显示了一组抑制性磷酸基团。

结合到不同的 Cdk 蛋白上，分别组成了 **S-Cdk** 和 **G_1/S-Cdk**，启动细胞进入 S 期。S-Cdk 和 M-Cdk 的活动如图 18-10 所示。另一类被称为 **G_1 期细胞周期蛋白**的周期蛋白在早 G_1 期起作用，它们结合到其他 Cdk 蛋白上组成了 **G_1-Cdk**，它帮助推动细胞从 G_1 期进入 S 期。稍后，我们将会看到这些动物细胞内的 G_1-Cdk 复合物的形成依赖于某些刺激细胞分裂的胞外的生长因子。各个细胞周期蛋白和它们的 Cdk 的名称见表 18-2。

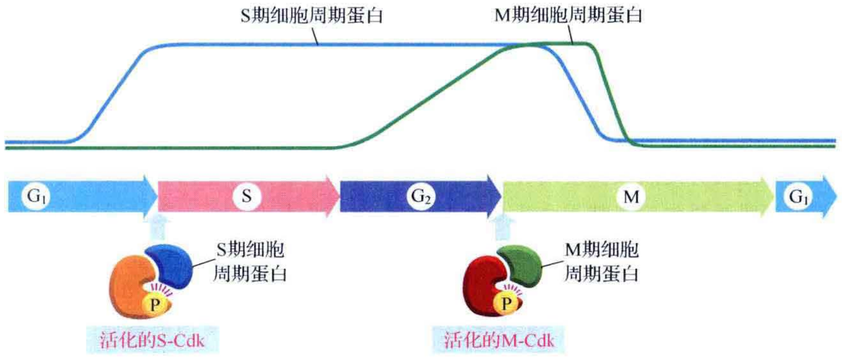


图 18-10　特异的 Cdk 复合物与不同的细胞周期蛋白结合，启动了细胞周期中不同的事件。为了方便起见，只显示了两种细胞周期蛋白-Cdk 复合物——一种启动 S 期，一种启动 M 期。在这两个例子中，Cdk 的活性需要磷酸化和去磷酸化并且与细胞周期蛋白结合。

表 18-2　脊椎动物的主要细胞周期蛋白和 Cdk 复合物

细胞周期蛋白-Cdk 复合物	细胞周期蛋白	Cdk 协同蛋白
G_1-Cdk	细胞周期蛋白 D*	Cdk4，Cdk6
G_1/S-Cdk	细胞周期蛋白 E	Cdk2
S-Cdk	细胞周期蛋白 A	Cdk2
M-Cdk	细胞周期蛋白 B	Cdk1**

* 哺乳动物有三个细胞周期蛋白 D(细胞周期蛋白 D1，D2，D3)。

** 脊椎动物的 Cdk1 的原始名字是 Cdc2。

正如之前所解释的那样，不同的 Cdk 为发挥作用也必须磷酸化及去磷酸化(图 18-9)。每一种活化的细胞周期蛋白-Cdk 复合物接着磷酸化细胞中不同的靶蛋白。因此，每一种复合物启动细胞周期中不同的转变步骤。比如说 M-Cdk，它磷酸化的关键蛋白可使染色体浓缩，核膜破裂，以及细胞骨架的微管重组以形成有丝分裂纺锤体。这些事件预示着进入有丝分裂的入口，之后我们会讨论。

18.2.4 细胞周期控制系统同样依赖于细胞周期蛋白

在细胞周期中，每一种细胞周期蛋白的含量缓慢升高，但在细胞周期一个特定的时间又急剧下降(图 18-10)。这一迅速下降是由于靶向性的细胞周期蛋白的降解，特定的酶复合物将泛素链添加到适当的细胞周期蛋白上，然后这些细胞周期蛋白被导向到蛋白酶体降解(图 18-11)。细胞周期蛋白的迅速清除使 Cdk 重新返回到它的静止状态。

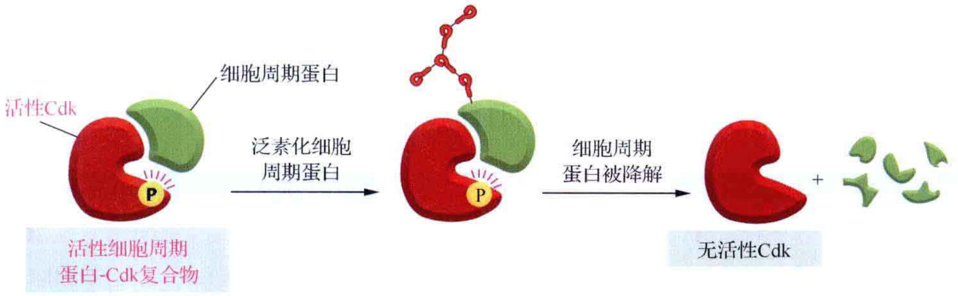


图 18-11 Cdk 复合物的活性被细胞周期蛋白的降解而调控。泛素化的细胞周期蛋白在蛋白酶体中降解(如第 7 章做讨论的那样)。失去细胞周期蛋白使它的 Cdk 协作蛋白失活。

尽管 Cdk 的活化引发了细胞周期从一步到下一步的转变，而它们的失活则引发其他转变。比如，由 M 期细胞周期蛋白的降解引发 M-Cdk 的失活，导致了细胞有丝分裂结束这一分子事件的发生。

18.2.5 抑制 Cdk 的蛋白可以使细胞周期停滞在特定的检查点

我们已经了解到细胞周期控制系统按着一定顺序依次启动周期中不同的事件。例如，它仅在所有 DNA 复制完成后才启动有丝分裂，而且只有在有丝分裂完成后才允许细胞一分为二。如果其中某一步延误了，控制系统便会推迟下一步的启动，以保持既定的顺序。控制系统的这种自我调节特性确保了如果由于某些原因，DNA 复制在 S 期停滞，那么仅部分 DNA 复制的细胞不会进入 M 期。如前所述，控制系统是通过一种分子制动器的作用在特定的“检查点”处停止周期运转而实现这一功能，细胞在继续完成细胞周期前有机会检查一下它的内在环境及胞外环境(图 18-3)。

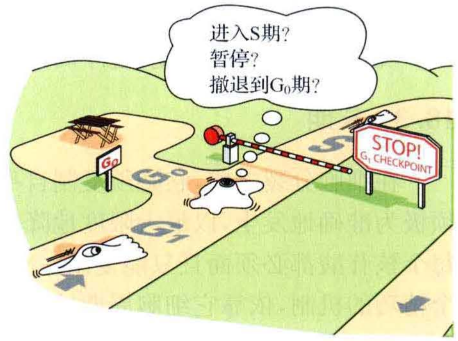


图 18-12 G_1 期的检查点为细胞提供了一个十字路口。细胞可以决定完成另一个细胞周期，暂停直到条件合适，或者从细胞周期彻底退出而进入 G_0 期。在一些情况下，当条件改善，G_0 期的细胞可以重新进入细胞周期，但有很多细胞在分化后永久地从细胞周期退出，在动物的一生中一直停滞在 G_0 期。

这些分子制动器中的一部分依赖于 **Cdk 抑制蛋白**，它们阻碍了一个或多个细胞周期蛋白激酶复合物的组装和活性。某些蛋白激酶抑制蛋白，比如说，在细胞周期的 G_1 期维持蛋白激酶处于静止状态，这样就延缓进入 S 期。在这个检查点的停顿给了细胞更多的时间来生长，或允许细胞等待，直到外在条件适合分裂。按一般的规律，只有当被其他细胞产生的称为有丝分裂原的胞外信号刺激，哺乳动物的细胞才会扩增。如果去掉了这些信号，细胞周期就停滞在 G_1 检查点(图 18-3)：而如果细胞停滞了足够长的时间，它将退出细胞周期，进入非增殖期 G_0 期，在这个时期细胞能够停留数天、数周甚至是机体的一生(图 18-12)。

人体内细胞分裂速率的多样性大部分取决于细胞在 G_0 或 G_1 期所花的时间。一些种类的细胞，像肝细胞通常一年只分裂一次或两次，但是肠道的某些上皮细胞一天至少分裂两次来不断更新肠道的膜。我们的许多细胞介于两者之间：如果有需要，它们就会分裂，但平时不经常这么干。逃逸 G_1 期检查点或 G_0 期需要 G_1 期细胞周期蛋白的累积，以及有丝分裂原刺激这个累积的功能。

一旦通过 G_1 期检查点，细胞通常快速完成剩余的细胞周期——在哺乳动物中一般为 12～24 h。因为通过它就代表了完成整个分裂周期的保证，图 18-13 总结了细胞周期中的一些主要检查点。由于细胞通过 G_1 期检查点为其完成整个分裂周期提供了保证，因此，G_1 期检查点有时候被称为*开始*，尽管另外一个更好的名字可能应该是停止(图 18-12)。

图 18-13　细胞周期控制系统能够在各个检查点停止周期运行。红色的"T"代表周期中的点，在这些点周期控制系统能够应用分子刹车(像 Cdk 抑制蛋白)来停止运行从而对 DNA 损伤，细胞内的活动尚未完成，或不利的外界环境做出响应。M 期的这个检查点，确保了重复的染色体被拉开之前，所有的染色体都适当地附着到有丝分裂纺锤体上。

细胞周期控制系统能够作出的最为极端的决定是使细胞永远从细胞周期退出。这不同于临时从细胞周期退出以等待更为适合的环境，而且它在多细胞生物体中有着特殊的重要性。比如说在人的身体中，神经细胞和骨骼肌细胞在分化后就永远停止了分裂。它们进入了不可逆转的 G_0 阶段，这个时期的细胞控制系统在很大程度上失败了：很多蛋白激酶和细胞周期蛋白消失了，仍然存在的细胞周期蛋白激酶复合物则被 Cdk 抑制蛋白所抑制。

现在让我们转向 S 期，这个时期细胞复制它们的 DNA 并开始为分离准备它们的染色体。

18.3　S 期

在细胞分裂之前，它必须复制自身的 DNA。正如我们在第 6 章所讨论的那样，这个复制必须极为准确地发生，以最大限度地降低下一代细胞中的突变风险。同样重要的是，基因组中的每个核苷酸都必须而且只能复制一次来预防基因扩增的破坏性影响。在这个章节，我们思考一个精巧的机制，依靠它细胞周期控制系统启动复制过程，同时，又防止在每个通过细胞周期中复制多于一次。

18.3.1　S-Cdk 启动 DNA 复制并有助于预防再复制

正如我们在第 6 章中所讨论的那样，DNA 的复制开始于*复制起始位点*，即一些在每条染色体上散状分布的核苷酸序列。这些序列吸引着特别的蛋白质，这些蛋白质控制着 DNA 复制的启动和完成。一个多蛋白复合物，**起始识别复合物**(ORC)在整个细胞周期中一直保持与复制起始位点结合，在这里它在 S 期开始前已经结合着的额外的调节蛋白充当一种"着陆点"。

这些调节蛋白中的其中一个叫做 Cdc6，在细胞周期中大部分时间水平很低，但它的浓度在 G_1 期的早期短暂上升。当 Cdc6 在 G_1 期结合 ORC 时，它促进了额外的蛋白质的结合而形成了*预复制复合物*。一旦预复制复合物形成，复制起点就准备好"开火"，S-Cdk 在 G_1 期后期的激活"扣扳机"，开始 DNA 的复制。

如图 18-14 中所示，S-Cdk 并不只是起始最初的点火，它同样有助于阻止 DNA 的再复制。活化的 S-Cdk 帮助磷酸化 Cdc6，是它以及预复制复合物中的其他蛋白在一个起点被点火之后从 ORC 中分离。这一解离防止了在同一复制起点再次发生复制。除了促进离解，S-Cdk 使 Cdc6 磷酸化（以及通过在 M 期的初期激活的 M-Cdk）标注了它将要被降解，确保了以后在同一个细胞周期中不重新开始 DNA 复制。

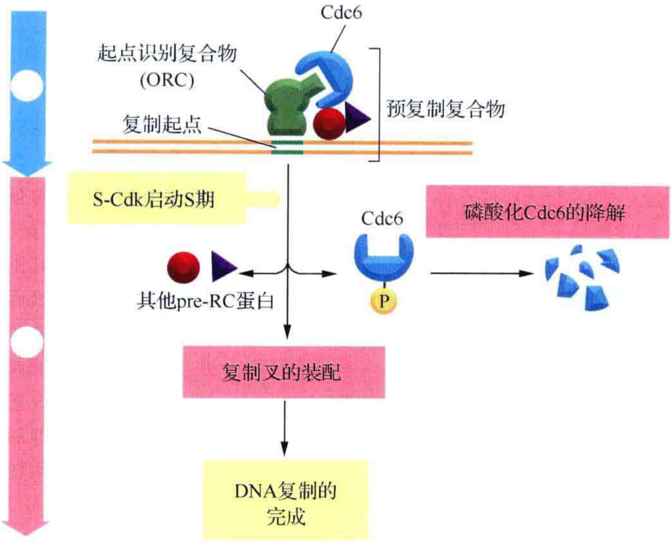


图 18-14 S-Cdk 启动 DNA 复制并确保 DNA 在每个细胞周期只复制一次。ORC 在整个细胞周期中保持与复制起点结合。在 G_1 期早期，调控蛋白 Cdc6 与 ORC 结合。在 Cdc6 帮助下，额外的蛋白与相邻 DNA 结合，导致预复制复合物形成，这个复合物包括蛋白和它所结合的 DNA。然后 S-Cdk 通过使启动 DNA 合成的蛋白复合物组装，触发点火（第 6 章讨论的）。S-Cdk 通过促进 Cdc6 磷酸化帮助阻止重复复制，磷酸化的 Cdc6 从起点上脱离并被降解。

18.3.2 黏连蛋白保持每个复制染色体的姐妹染色单体在一起

染色体在 S 期复制后，复制过的染色体的两个拷贝作为相同的**姐妹染色单体**继续紧密结合在一起。由称为**黏连蛋白**的蛋白复合物将把在 S 期 DNA 复制的各个姐妹染色单体沿其长轴捆绑。这个黏连蛋白构成了蛋白环，套住两个姐妹染色单体，使之保持结合（图 18-15）。姐妹染色单体之间的黏连蛋白对正确的染色体分离至关重要，只有在有丝分裂后期它才会完全解离以允许姐妹染色单体被有丝分裂纺锤体分开。姐妹染色单体黏连蛋白的缺失——比如在酵母突变体中——可导致染色体分离严重出错。

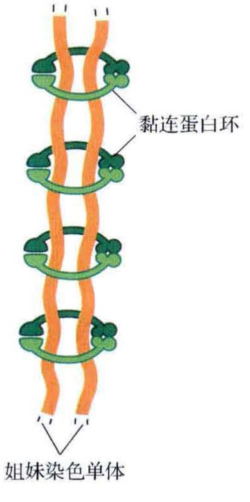


图 18-15 黏连蛋白将每个复制的染色体的两个相邻的姐妹染色单体绑在一起。它们形成了巨大的蛋白环，环绕姐妹染色单体，防止它们分开，直到这个环在有丝分裂后期被破坏。

18.3.3 DNA 损伤检查点有助于防止受损 DNA 的复制

细胞周期控制系统用了一些独特的检查点机制，用以在 DNA 损伤时，停止细胞周期的进程。在 G_1 期和 S 期的 DNA 损伤检查点防止细胞开始或完成 S 期，以及复制损伤的 DNA。其他在 G_2 期的检查点防止细胞带着受损的或尚未完成复制的 DNA 进入 M 期（见图 18-13）。

G_1 期检查点机制研究得比较透彻。损伤的 DNA 导致了一个叫作 **p53** 的蛋白的浓度和活性的增加，p53 是一种转录调控因子，它激活了编码一个称为 p21 的 Cdk 抑制蛋白的基因转录。p21 蛋白与 G_1/S-Cdk 和 S-Cdk 结合，预防细胞进入 S 期（图 18-16）。将

细胞周期阻止在 G_1 期,为细胞在复制之前修补损伤 DNA 提供了时间。如果 DNA 的损伤太严重难以修复,p53 会诱导细胞通过发生凋亡来杀死自己。如果 p53 缺失或有缺陷,受损伤 DNA 的自由复制将导致高速突变,产生的细胞趋向于癌变。事实上,已发现在人类癌细胞中的一半有 *p53* 基因突变。

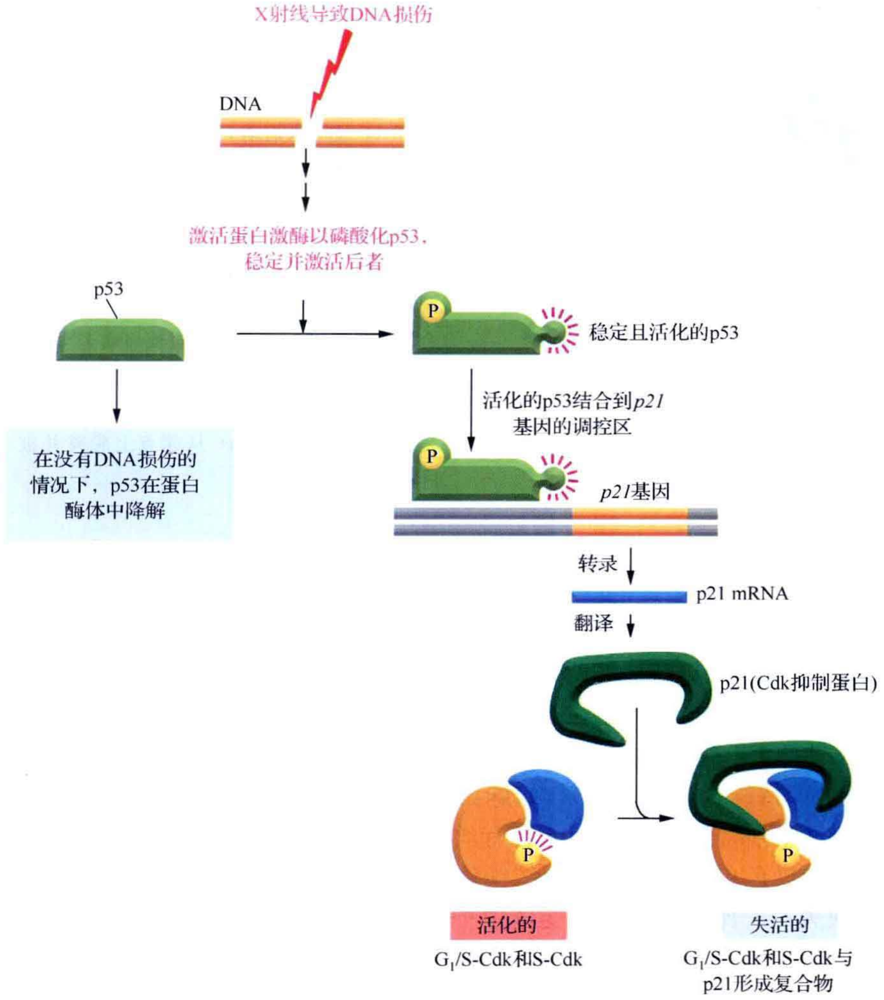


图 18-16 DNA 损伤会在 G_1 期的一个检查点阻止细胞周期。当 DNA 损伤,特定的蛋白激酶通过激活 p53 蛋白回应,并停止其正常的快速降解。然后激活的 p53 蛋白累积并与 DNA 交联(视频 18.1)。激活的 p53 蛋白刺激编码 Cdk 抑制蛋白——p21 的基因转录。p21 蛋白与 G_1/S-Cdk 和 S-Cdk 结合,并使它们失活,所以细胞周期停在了 G_1 期。

一旦 DNA 复制开始,另一种检查点机制开始运转来阻止细胞中损伤的或未完成复制的 DNA 进入 M 期。正如我们在图 18-9 所看到的那样,细胞周期蛋白激酶复合物的活性受特定位点的磷酸化的抑制。对于进行有丝分裂的细胞,必须先由一个专一性的蛋白磷酸酶除去这些抑制性磷酸化,从而激活 M-Cdk。当 DNA 受损(或未完成复制),这个激活蛋白磷酸酶是自我抑制的,所以抑制性磷酸化不能从 M-Cdk 中去除。结果,M-Cdk 保持不活化,M 期也不能起始,直到 DNA 复制完成,且任何 DNA 损伤都修复好。

一旦细胞通过这些检查点而且成功地在 S 期复制自身的 DNA,并通过了 G_2 期,细胞就准备好进入 M 期。在此期间,细胞核被分开(有丝分裂过程),然后是它的细胞质(胞质分裂)(图 18-2)。在接下来的三个章节中,我们将聚焦于 M 期。首先我们介绍 M 期作为一个整体的简要概述,然后更详细地讨论一下在有丝分裂中,以及随后在胞质分裂中发生的事件。我们将主要关注动物细胞。

18.4 M 期

尽管 M 期(有丝分裂加胞质分裂)发生时间相对较短——在每天分裂一次甚至一年分裂一次的哺乳动物细胞中大约为 1 h——但这是迄今为止最引人注目的细胞周期阶段。在这短暂的时期,细胞几乎重组所有组件,并把它们平均分配到两个子细胞中。事实上,细胞周期的前面几期是为 M 期的好戏而设置的舞台。

一个细胞在 M 期的核心问题是准确地分离它在之前的 S 期复制的染色体,所以每个新的子细胞得到相同的基因组拷贝。伴随着轻微变化,所有真核生物用类似的方法解决这个问题:它们组建了两个专门的细胞骨架机器,一个拉开重复的染色体组(在有丝分裂时),另一个将细胞质一分为二(胞质分裂)。我们以概述来开始讨论 M 期,其中我们思考细胞如何推进 M 期的进程。然后我们依次讨论有丝分裂和胞质分裂。

18.4.1 M-Cdk 促使进入 M 期和有丝分裂

细胞周期控制的许多显著特点之一是单个蛋白复合物——M-Cdk 即可引起发生在有丝分裂早期阶段的所有各种不同而复杂的事件。M-Cdk 启动了将经过复制的染色体浓缩的过程使之成为短棒状的致密的结构,为分离做好准备;M-Cdk 还诱导纺锤体的装配,用于分开浓缩的染色体并将它们分到两个子细胞中。

正如之前讨论过的那样,M-Cdk 的激活是从 M 期细胞周期蛋白的积聚开始的(见图 18-10)。M 期细胞周期蛋白的合成在 S 期之后立即开始。M 期细胞周期蛋白的浓度逐渐增加,并帮助设置 M 期的时间点。它的增加也导致了 M-Cdk 复合物的相应积累。但当这些复合物第一次形成时,它们不是活化的。大量储备的 M-Cdk 在 G_2 末期的突发性激活是因蛋白磷酸酶(Cdc25)的活化而触发,该酶移走了通过检查点时控制 M-Cdk 活性的抑制性磷酸化(图 18-17)。

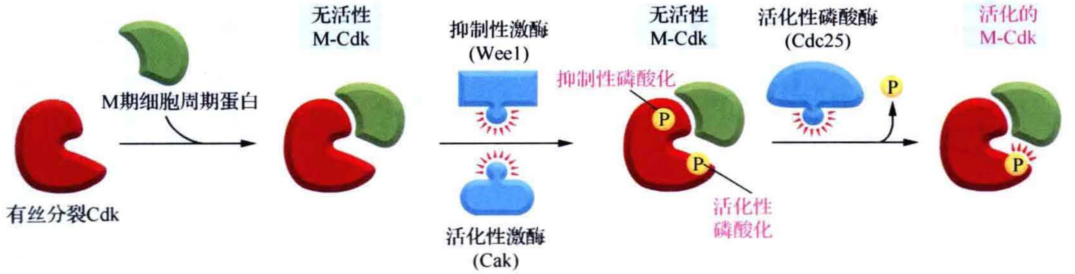


图 18-17 为了激活 M-Cdk,M-Cdk 必须在一个位点磷酸化,并在其他位点去磷酸化。当它第一次形成时,M 细胞周期蛋白——Cdk 复合物是不活跃的酶。随后,Cdk 在一个位点被一个叫作 Cdk-活性激酶的酶(Cak)磷酸化,该磷酸化是它的活性所需(视频 18.2)。同样它在其他两个重叠位点被磷酸化,抑制了它的活性(通过一种叫 Wee1 的酶)。为方便起见,这里只显示了一个抑制磷酸化基团。现在仍然不清楚这个复杂的激活过程的时间点是如何控制的。

一旦活化,每个 M-Cdk 复合物都会通过磷酸化和激活更多的 Cdc25 从而间接激活更多的 M-Cdk,如图 18-18 所示。除此之外,激活的 M-Cdk 也抑制一个被称为 Wee Ⅰ 的抑制性蛋白激酶(图 18-17),进一步促进了 M-Cdk 的活化。综合结果就是一旦 M-Cdk 被激活,M-Cdk 活性将暴发性增加,出其不意地推动细胞从 G_2 期进入到 M 期。

18.4.2 凝缩蛋白帮助复制的染色体成型以便分离

当细胞将要进入 M 期，复制的染色体浓缩，变成了可见的线状结构。称作**凝缩蛋白**的蛋白复合物帮助完成**染色体浓缩**，启动进入 M 期的 M-Cdk，通过磷酸化一些凝缩蛋白亚基，启动了将凝缩蛋白酶复合物装配到 DNA 上。浓缩使有丝分裂染色体更致密，将它们缩小变成更小的包装，更容易在分裂细胞的拥挤范围内分开。

凝缩蛋白结构上与黏连蛋白相似——这种蛋白使姐妹染色体结合在一起(图 18-15)。凝缩蛋白和黏连蛋白都在有丝分裂时形成环状结构，这两种蛋白环帮助复制的染色体成型以便当 DNA 在 S 期复制时黏连蛋白在 DNA 上组装并把两个平行的 DNA 分子——姐妹染色单体绑在一起。相反，凝缩蛋白在 M 期初期的每个染色单体上组装，并螺旋化 DNA 来帮助每个染色体浓缩(图 18-19)。

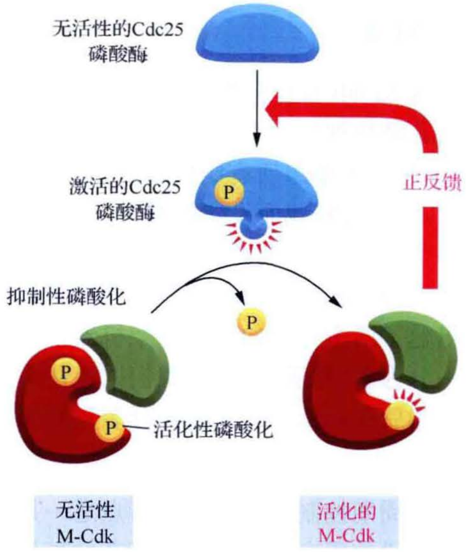


图 18-18 激活的 M-Cdk 间接地激活了更多的 M-Cdk，形成一种良性循环。一旦被激活，M-Cdk 就磷酸化。从而激活更多的 Cdk-活化磷酸化酶(Cdc25)。通过去除 Cdk 亚基上的抑制磷酸化基团，磷酸酶能够激活更多 M-Cdk。

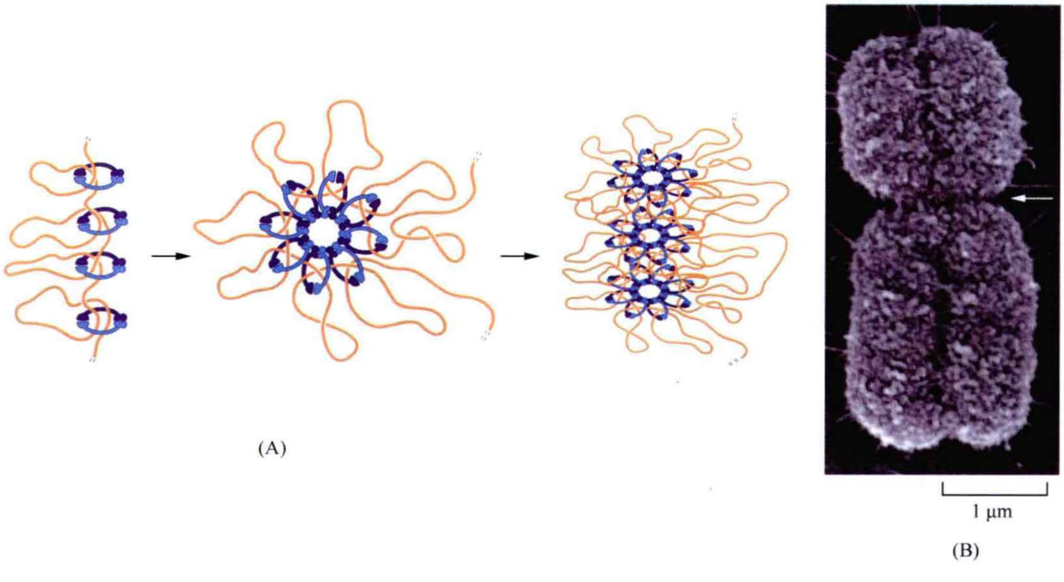


图 18-19 凝缩蛋白有助于将有丝分裂染色单体盘绕成较小体积，结构更加紧凑，使之更容易在有丝分裂时分离。(A) 凝缩蛋白通过盘绕 DNA 成长环能够压缩一个染色单体的模型；(B) 人有丝分裂染色体的扫描电镜图，它含有两条沿长度方向链接的姐妹染色单体。凹陷的区域(箭头所示)是着丝粒区，每个染色单体将在那里附着到有丝分裂纺锤体上，纺锤体在有丝分裂结束时将姐妹染色单体拉开。(B 蒙 Terry D. Allen 惠许)

18.4.3 细胞骨架实现了有丝分裂和胞质分裂

当复制的染色体浓缩后，两个复杂的细胞骨架机器依次组装用于实现两个在 M 期发生的机械性过程。有丝分裂纺锤体实现了核分裂(有丝分裂)，在动物细胞和许多单细胞真核生物

中，收缩环实现了细胞质分裂(胞质分裂)(图 18-20)。在完成自己的任务后，这两种结构迅速分解。

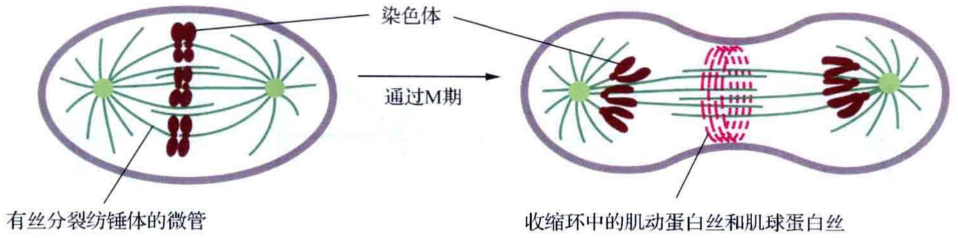


图 18-20　动物细胞中介导 M 期的两个暂时性的细胞骨架结构。有丝分裂纺锤体首先组装，用以分离染色体。然后，收缩环组装，用以把细胞一分为二。有丝分裂纺锤体基于微管而收缩环基于肌动蛋白和肌球蛋白丝。植物细胞用完全不同的机制来分裂细胞质，之后我们会讨论。

有丝分裂纺锤体由微管和很多与它们相互作用的蛋白，包括与微管结合的动力蛋白一起组成(在 17 章讨论过)。在所有的真核细胞中，有丝分裂纺锤体负责分开复制的染色体并把每个染色体的一个拷贝分配到每个子细胞中。

收缩环主要由肌动蛋白丝和肌球蛋白丝组成，形成环绕赤道的环(在 17 章介绍过)。在有丝分裂即将结束时，收缩环在质膜的正下方开始组装。当这个环收缩时，它把质膜向内拉，然后把细胞一分为二(图 18-20)。之后我们将讨论有细胞壁保护的植物细胞是怎样通过一种非常不同的机制来分裂细胞质。

18.4.4　M 期通常分为六个阶段

尽管 M 期是作为一个连续序列事件进行的，它传统上分为六个阶段。M 期的前五个时期——前期、前中期、中期、后期以及末期，构成了**有丝分裂**，原本被定义为染色体可见时期(因为它们浓缩了)。胞质分裂构成了第六个阶段，它在时间上与有丝分裂的结束重叠。M 期的六个阶段总结在表 18-1 中。总括起来，它们形成了一串动态事件，其中多个独立的循环——染色体、细胞骨架和中心体——一起来协调产生两个遗传上相同的子细胞。

有丝分裂的五个阶段严格按顺序发生，但是胞质分裂在后期开始并一直延续到末期。在前期复制的染色体浓缩，有丝分裂纺锤体开始在细胞核外组装。在前中期，核膜破裂，导致纺锤体微管与染色体结合。在中期，有丝分裂纺锤体把所有的染色体聚集于纺锤体中央(赤道板)。在后期，每条复制了的染色体的两条姐妹染色单体同步分离开来，然后被纺锤体拉向细胞相对的两极。在末期，围绕着两套分离的染色体重新形成核被膜，从而形成两个细胞核(视频 18.3 和视频 18.4)。胞质分裂以末期的结束而完成，每个子细胞的细胞核与细胞质返回间期，标志着 M 期的结束。

18.5　有丝分裂

在核分裂之前或在有丝分裂开始时，每条染色体都已经完成复制并形成了两条相同的姐妹染色单体，它们靠黏连蛋白顺着长度结合在一起(图 18-15)。在有丝分裂时，黏连蛋白被剪切，姐妹染色单体分离开来，从而使姐妹染色体被有丝分裂纺锤体拉向细胞相反的两极(图 18-21)。在这个阶段，我们考查了有丝分裂纺锤体是如何组装及起作用的。我们讨论微管的动态不稳定性以及微管相关马达蛋白的活性是如何参与纺锤体的组装和分开姐妹染色单体的。最后，我们回顾一下检查点机制，它在有丝分裂中运转，确保了姐妹染色单体的同步分离，使两套染色体正

确分离并分配到两个子细胞中，并有序及时地退出有丝分裂。

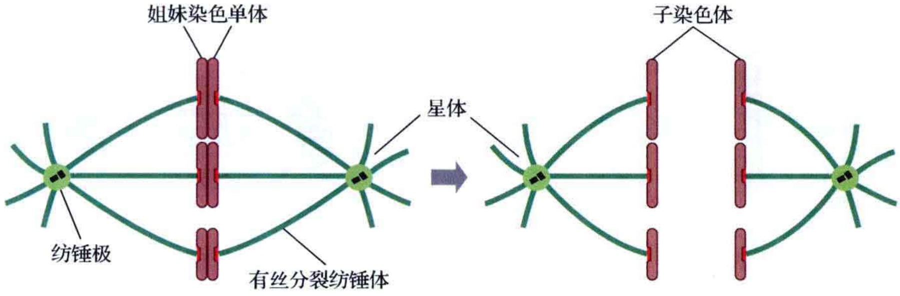


图 18-21 在后期开始时每对姐妹染色单体分离。姐妹染色体随后被有丝分裂纺锤体拉向细胞的相反两极。

18.5.1 两个中心体有助于形成有丝分裂纺锤体的两极

M 期起始之前，两个重要的事件必须完成：DNA 必须被完整地复制；在动物细胞中，中心体必须复制好。在动物细胞中，**中心体**是主要的微管组织中心。两个中心体有助于形成有丝分裂纺锤体的两极，因而每个子细胞能够得到一个中心体。

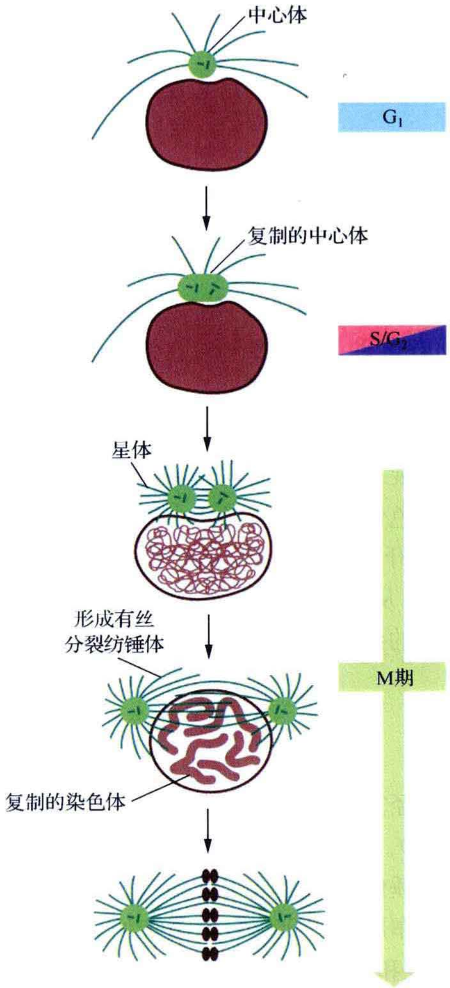


图 18-22 间期细胞中的中心体倍增以形成有丝分裂纺锤体的两个极点。在大部分动物细胞的间期（G_1 期、S 期和 G_2 期）中，每对中心粒（这里显示成一对深绿色短棒）与中心体基质（浅绿色）相连，它是微管向外生长的核心（为了清晰中心体基质的体积在图中被夸张了）。中心体在 S 期初期开始复制倍增，在 G_2 期结束时完成。最初，两个中心体保持在一起，但在 M 期早期，它们分裂成两个，每个是它自身星体的核心。这两个星体随后分开，在两个星体之间的微管伸长以形成一个两极的有丝分裂纺锤体，每一极都有一个星体。当核被膜解离时，纺锤体微管能够与染色体相互作用。

中心体复制起始于S期的开端，被与激发DNA复制相同的Cdk(G_1/S-Cdk和S-Cdk)启动。当中心体最初被复制出来时，两份拷贝作为一个复合物在细胞核的一侧保持在一起。然而，当有丝分裂起始时两个中心体分离，每一个中心体形成放射状排列的微管，称为**星体**。两个星体移动到细胞核相反两侧，形成有丝分裂纺锤体的两极(图18-22)。中心体复制和分离的过程成为**中心体周期**。

18.5.2 有丝分裂纺锤体在前期开始组装

有丝分裂纺锤体在**前期**形成。这个极具活力的纺锤体的组装依赖于微管的出色的特性。正如我们在第17章中所说，微管通过持续增加和丢失组成微管的微管蛋白亚基来实现微管的聚合和解聚，微管始终处于生长和缩短的更替中，这一现象称为动态不稳定性(图17-11)。在有丝分裂开始时，微管的不稳定性增加了，一部分原因是由于M-Cdk磷酸化微管相关蛋白，影响了微管的稳定性。结果，在细胞分裂前期，快速生长和退缩的微管从两个中心体向各个方向延伸，深入到细胞内部。从一个中心体伸出的某些微管与从其他中心体伸出的微管相互作用。这种相互作用稳定了微管，阻止了它们的解聚，它把两套微管结合起来形成了**有丝分裂纺锤体**的基本框架，具有典型的两极形态(视频18.5)。产生这些微管的两个中心体称为**纺锤极**，这些相互作用的微管被称为极性间微管(图18-23)。纺锤体的组装部分受到与极性间微管结合的动力蛋白的驱动，后者帮助两套微管交联。

在有丝分裂下一阶段，复制好的染色体附着在纺锤体上；当姐妹染色单体分离时，它们被拉向细胞相反的两极。

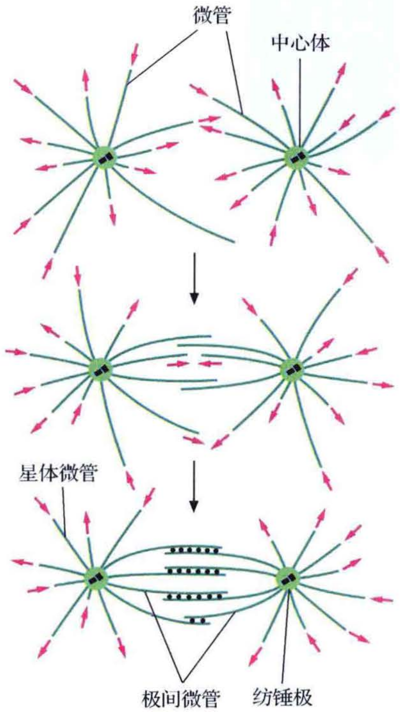


图18-23 通过选择性地稳定相互作用的微管，形成一个双极的有丝分裂纺锤体。新的微管从两个中心体以随机的方向生长出来。微管的两端(按惯例，称为正端和负端)有不同的特性。负端总是锁定于中心体中(详见第17章)；而游离的正端则是动力学上不稳定的，它能从均匀生长(向外的红箭头所指示)突然转向快速收缩(向内的红箭头所示)。当与来自于相反两端中心体的两条微管在重叠区相互作用时，马达蛋白和其他微管结合蛋白能将这两条微管交联在一起(黑点所示)，通过降低解聚的概率稳定它们的正端。

18.5.3 染色体在前中期附着于有丝分裂纺锤体

随着核被膜解聚并裂变为许多小膜泡，**前中期**突然启动。这一过程是由核孔蛋白和核纤层的中间丝蛋白的磷酸化和解聚引发的，核纤层是支持和稳定核被膜的纤维蛋白网络(图17-7)。这时已在核外等待着的纺锤体微管可以有机会接近复制好的染色体并抓住它们(图版18-1)。

通过一种前期末在浓缩染色体上组装的称为**动粒**的特殊蛋白质复合物，纺锤体最终抓住了染色体(图18-24)。正如之前所介绍的，每一复制后的染色体包括两个沿它们长度的方向结合的染色单体，每一染色单体在一个称为着丝粒的含有特殊DNA序列的部分被收紧(图18-19B)。临近前中期时，动粒蛋白在每个着丝粒上组装成一个大的复合物，因此每个复制好的染色体含有两个朝着相反方向的动粒(每个姐妹染色单体上各有一个)。动粒的组装完全依赖于着丝粒DNA序列的存在：若无这个序列，动粒就不能组装，染

色体也就不能在有丝分裂中正确地分离。

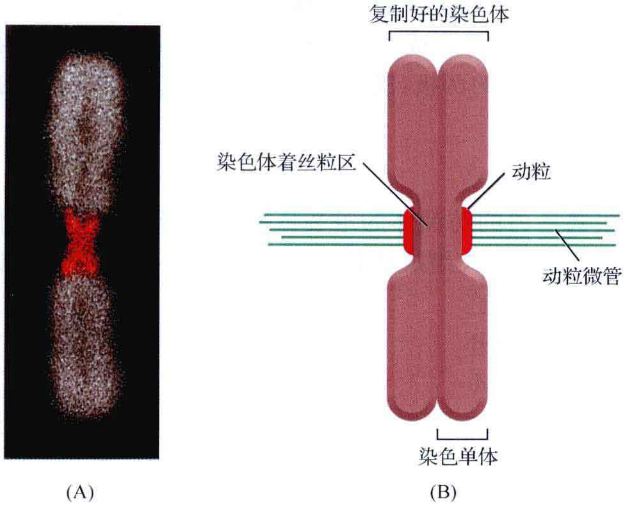


图 18-24 动粒连接染色体到有丝分裂纺锤体上。(A) 有丝分裂中复制后染色体的荧光照片。DNA 用一种荧光染料染色，动粒用识别动粒蛋白的荧光抗体染成红色。这些抗体来自于患有硬皮病(一种导致皮肤和其他器官过度生成结缔组织的疾病)的患者，由于未知的原因在他们体内产生了针对于自身动粒蛋白的抗体；(B) 一个有丝分裂染色体示意图，显示两条姐妹染色单体通过动粒附着至动粒微管。每个动粒在着丝粒表面形成了一个盘状物，微管的正端结合于动粒。(A 蒙 B. R. Brinkley 惠许)

一旦核被膜解聚，一个随机伸出的微管遇到动粒就与其结合因此俘获该染色体。微管最终附着在动粒上，动粒微管把染色体和纺锤体连接在一起(图 18-24 和图版 18-1)。因为姐妹染色单体上的两个动粒朝着相反的方向，它们倾向于附着那些来自纺锤体相反两极的微管上去，这样每个复制好的染色体就与两个纺锤极相连。朝向两极的附着被称为**双向定位**，在着丝粒上产生牵拉力并拉向相反的方向。这种牵拉信号传到正确附着的姐妹着丝粒并且准备分离。细胞周期控制系统监控牵拉力以确保正确的染色体附着，这就形成另一个重要的细胞周期检验点(图 18-3，图 18-13)。

附着于动粒上微管的数目在不同物种间不同：例如，人的一个动粒结合 20～40 根微管，而酵母的一个动粒仅结合一根微管。三种微管形成有丝分裂纺锤体，见图 18-25。

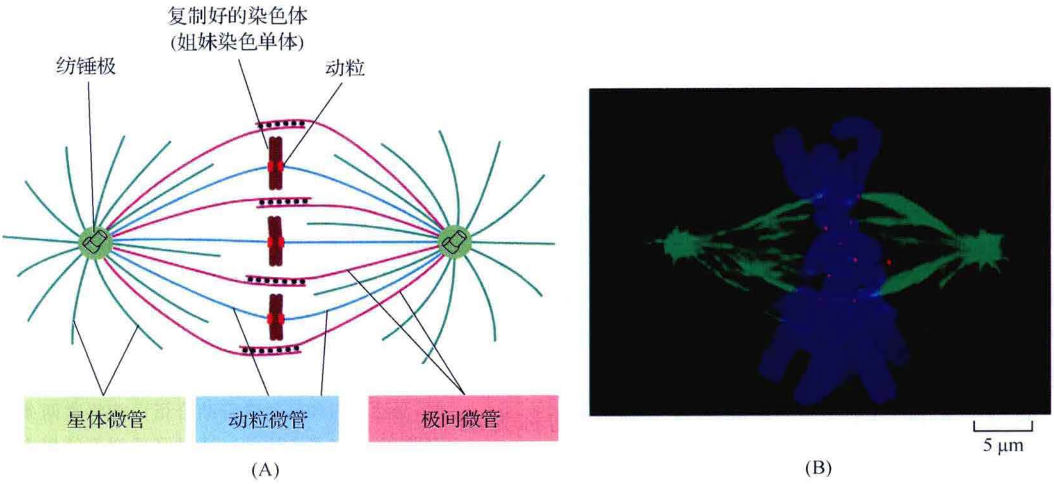


图 18-25 三类微管组成有丝分裂纺锤体。(A) 附着有染色体的纺锤体示意图，显示三种类型的纺锤体微管：星形微管、动粒微管和极间微管。实际上染色体远大于如图所示，且通常每个动粒附着有多根微管；(B) 荧光照片中显示的染色体在有丝分裂纺锤体的中期板上。在这张图上，动粒标记为红色，微管标记为绿色以及染色体标记为蓝色。(B 引自 A. Desai, *Curr. Biol.* 10:R508, 2000。蒙 Elsevier 惠许)

18.5.4 染色体辅助装配有丝分裂纺锤体

在纺锤体装配过程中染色体不仅仅只是被动的乘客:它们能够稳定纺锤体并能组织微管进入功能性的纺锤体内。没有中心体的细胞——包括所有植物细胞和一些动物细胞类型——其染色体自身装配核微管,然后由马达蛋白带动微管和染色体进入双极化纺锤体。即使在普通的含有中心体的动物细胞中,如果中心体被去除,双极化纺锤体仍能够通过以上方式形成(图 18-26)。在有中心体的细胞内,染色体、马达蛋白和中心体共同作用形成了有丝分裂纺锤体。

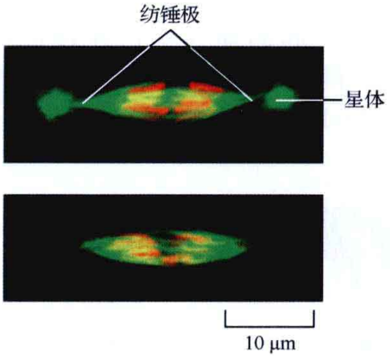


图 18-26 在没有中心体的情况下,马达蛋白和染色体可以指导装配有功能的两极纺锤体。在这些昆虫 Sciara 胚胎荧光显微照片里,微管染为绿色,染色体染为红色。上面一张显微照片显示的是一个在正常受精后的胚胎中带有中心体的正常纺锤体。下面一张显微照片显示的是一个未受精便启动发育的胚胎,因此其缺少一般由精子提供的中心体,而在没有中心体的情况下也能形成纺锤体。值得注意的是,带有染色体的纺锤体在每一极都有星形微管,然而在没有中心体的情况下形成的纺锤体中没有星形微管。两种纺锤体都能分离开子染色体。(引自 B. de Saint Phalle 和 W. Sullivan, *J. Cell Biol.* 141:1383-1391, 1998。蒙 Rockefeller 大学出版社惠许)

18.5.5 中期染色体排列在纺锤体的赤道板处

在前中期,附着于有丝分裂纺锤体的染色体开始移动,看来好像突然先向一个方向牵动,然后又朝另一方向急拉,最后它们排列于纺锤体两极之中的赤道板上形成中期板,标志着**中期**的开始(图 18-27)。虽然对于把染色体拉向赤道板的力量并不十分清楚,但微管连续不断地装配和解聚以及微管马达蛋白被认为与这一过程有关。为了保住纺锤体,还需要微管蛋白亚基的添加和失去持续保持平衡:如果用秋水仙素阻断微管蛋白的增加,微管蛋白将持续丢失,直至纺锤体消失。

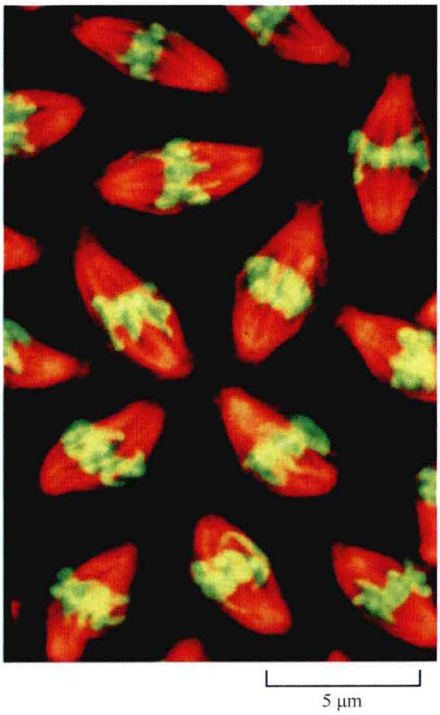


图 18-27 有丝分裂中期,染色体聚集在纺锤体两极之间。荧光显微照片显示,在果蝇(*Drosophila*)胚胎细胞分裂的中期有多个有丝分裂纺锤体。微管染为红色,染色体染为绿色。在果蝇发育的这一阶段,一个很大的胞质共同体中有许多细胞核,所有核同步分裂,这就是在这里显示的所有细胞核都处于细胞周期的同一阶段(中期)的原因(视频 18.6)。虽然中期纺锤体通常以二维显示,如同这里显示的那样,但若从三维角度看时,染色体则聚集于纺锤体赤道处的称为赤道板的盘状区域内。(蒙 William Sullivan 惠许)

聚集于中期纺锤体赤道板上的染色体来回振荡，不断调整它们的位置。这表明在所有染色体排列好之后，附着于纺锤体两极的微管之间的"拉锯战"仍在继续。如果在中期用激光人为损坏一对动粒附着点中的一个，那么整个染色体立即移向它仍然保持着连接的那一极。同样，如果姐妹染色单体之间的连接被切开，两个染色单体就会分离并移向相反两极。这些实验表明，位于中期板的染色体处于张力的控制之下。显然，只要微管一附着于动粒上，把姐妹染色单体最后拉开的力量就开始起作用了。

18.5.6 蛋白质水解引发姐妹染色单体分离并完成有丝分裂

后期突如其来地开始。随着把姐妹染色单体束缚在一起的黏连蛋白连接被切断(图 18-15)，这就允许每一染色单体被拉向它所连接的那个纺锤极(图 18-28)。这一运动把两套等同的染色体向纺锤极的两个相对的终端方向分开(图版 18-1)。

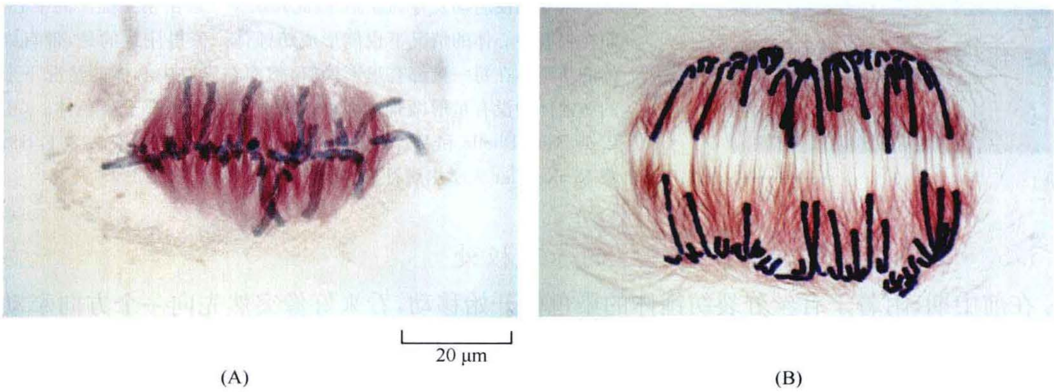


图 18-28 在后期，姐妹染色单体分离。在从中期(A)到后期(B)的转变中，姐妹染色单体(染为蓝色)突然分开并移向相反两极——图中所示为植物细胞中用金标抗体标记的微管(红色)。通常植物细胞没有中心体，因此与动物细胞相比，其纺锤极较不明显(见图 18-35D)。尽管如此，纺锤极存在于图的顶端和底端，虽然我们看不到。(蒙 Andrew Bajer 惠许)

姐妹染色单体间的黏连蛋白连接被一种称为*分离酶*的蛋白酶破坏。在后期起始之前，分离酶一直通过与紧固蛋白结合保持其失活的状态。在后期起始阶段，一种称为**后期促进复合物(APC)**的蛋白复合物破坏紧固蛋白。一旦紧固蛋白被移除，分离酶就被释放出来切割姐妹染色单体间的黏连蛋白连接(图 18-29)。

APC 不但引起黏连蛋白的降解，而且还破坏 M 期细胞周期蛋白，导致 M-Cdk 复合物失活。M-Cdk 的快速失活有利于细胞退出有丝分裂。

18.5.7 染色体在后期分开

一旦姐妹染色单体分开，每一染色单体就被拉向它所连接的那个纺锤极。分开的染色体以相同速度移动，典型的速度约为 1 μm/min。这一运动是由有丝分裂纺锤体不同部分介导的两个独立过程的结果，它们被称为*后期 A* 和*后期 B*，而且几乎是同步的。后期 A 中，动粒微管通过解聚变短，因而它所附着的染色体就向极的方向移动。在后期 B 中，纺锤极自己移动并分开，更进一步有助于两组染色体的分离(图 18-30)。

后期 A 中，移动的驱动力被认为主要来自在动粒上运作的微管马达蛋白的作用，部分则来自于动粒微管的缩短。动粒微管上微管蛋白亚基的丢失，依赖于既结合在微管上又结合在动粒上的类似马达蛋白的一种蛋白的作用，这种蛋白利用水解 ATP 的能量从微管上移除微管蛋白亚基。

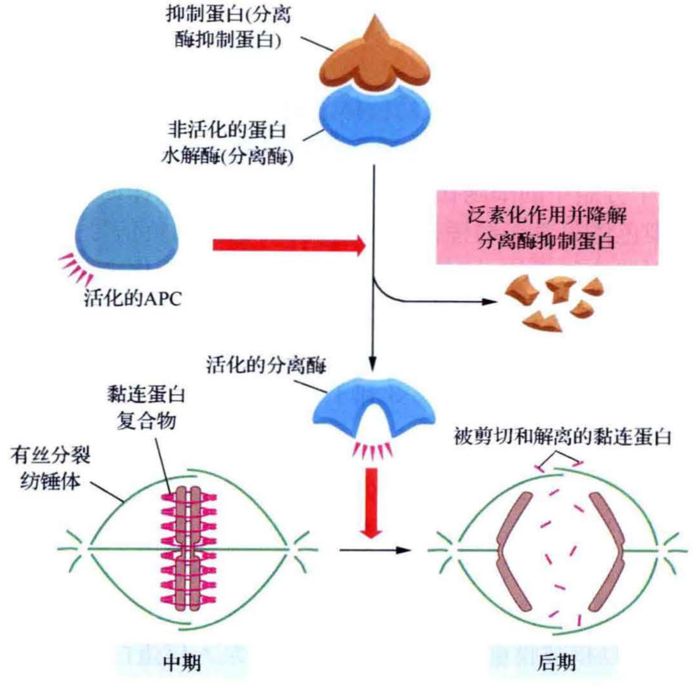


图 18-29　APC 通过降解黏连蛋白来触发姐妹染色单体的分离。活化的 APC 催化泛素化和降解分离酶抑制蛋白，间接地切开将姐妹染色单体连在一起的黏连蛋白。抑制蛋白抑制称为蛋白水解酶的活性。当分离酶抑制蛋白被破坏后，黏连蛋白复合物被分离酶切割，让有丝分裂纺锤体能够分开姐妹染色单体。

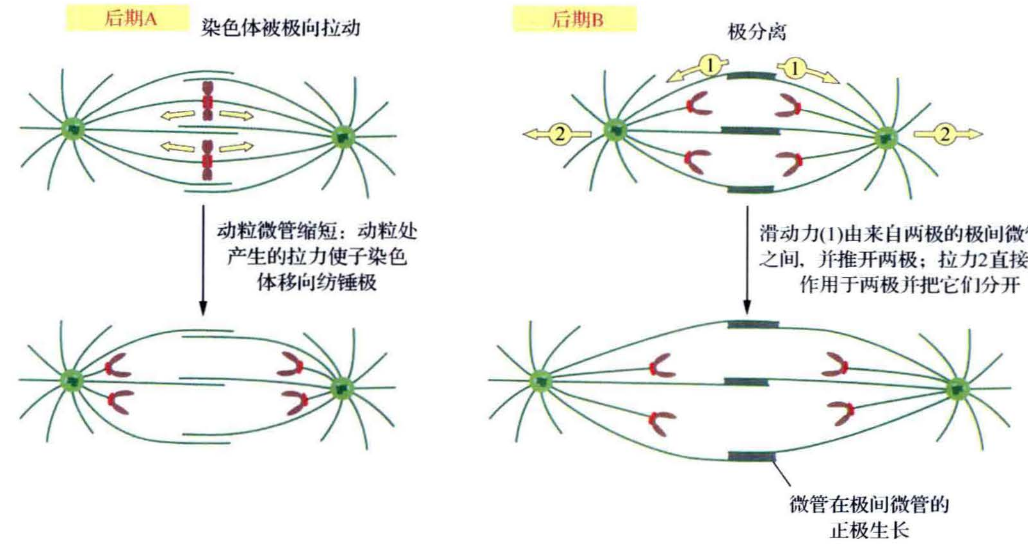


图 18-30　后期分离姐妹染色单体的两个过程。在后期 A 中，由于动粒微管在动粒处解聚，子染色体被拉向相反的两极，这一运动的驱动力主要产生于动粒处。在后期 B 中，两个纺锤极的分开是两种力量的结果：①极间微管的伸长和相互间的滑行把两极推开。②每一纺锤极上向外伸展的星形微管发出向外的力拉动两个纺锤极朝细胞皮层方向互相远离。所有这些动力都被认为依赖于与微管相结合的马达蛋白的作用。

后期 B 中，纺锤极和两份染色体进一步分开。这一运动的驱动力来自于两套马达蛋白，分别为作用于不同种纺锤体微管的驱动蛋白家族以及动力蛋白家族(图 17-20)。其中一套马达蛋白作用于长的极间微管，该微管在两极间重叠，形成纺锤体本身。这些马达蛋白使来自相反方向的极间微管在纺锤体的赤道上相对滑动，从而把纺锤极分离开来。另一套马达蛋白作用于从纺锤极伸出来的背离纺锤体赤道而指向细胞周边的星形微管上，它们被认为与位于质膜之下的

细胞皮层相连接，把每一纺锤极拉向邻近的皮层而离开另一极（图 18-30）。

18.5.8 未连接的染色体阻止姐妹染色单体分离

如果一个分裂中的细胞在其所有的染色体完全连接在纺锤体之前就开始进行染色体分离，那么其中一个子细胞将得到不完整的染色体，而另一个子细胞将得到过多的染色体，这两种情况对于细胞来说都是致命的。因此，一个分裂中的细胞在完成有丝分裂之前必须保证全部染色体完全地连接在纺锤体上。为了监控染色体附着于纺锤体上的情况，细胞使用负信号：未连接的染色体发送一个“停止”信号给细胞周期控制系统，该信号通过阻断 APC 的活化来抑制细胞有丝分裂进一步进行。没有了活化的 APC，姐妹染色单体就维持结合在一起的状态。如此，在每一条染色体正确地定位在有丝分裂纺锤体上之前，没有姐妹染色单体能够分离。这就是所谓的纺锤体装配检查点，该检查点控制有丝分裂的出口（图 18-3 和 18-13）。

18.5.9 核被膜在分裂末期重新形成

到了后期末，子染色体已分成相等的两套，各维系于一个纺锤极。在有丝分裂的最后一个阶段——**末期**，有丝分裂纺锤体崩解，核被膜围绕每一套染色体重新组装，形成两个子细胞核。核被膜小泡先是聚集在单个染色体周围，随后融合，重新形成核被膜（图版 18-1）。在这一过程中，核孔蛋白在核被膜上重新装配，而在前期被磷酸化的核纤层蛋白此刻则去磷酸化并且重新组合形成核被膜和核纤层（图 18-31）。一旦核被膜重新形成，核孔就开始泵入核蛋白，细胞核膨胀，凝聚的有丝分裂染色体解聚为间期的状态。解凝聚的结果是基因转录得以恢复。一个新的细胞核已经建立，有丝分裂也就完成了。剩下的事是细胞完成分裂成为两个子细胞。

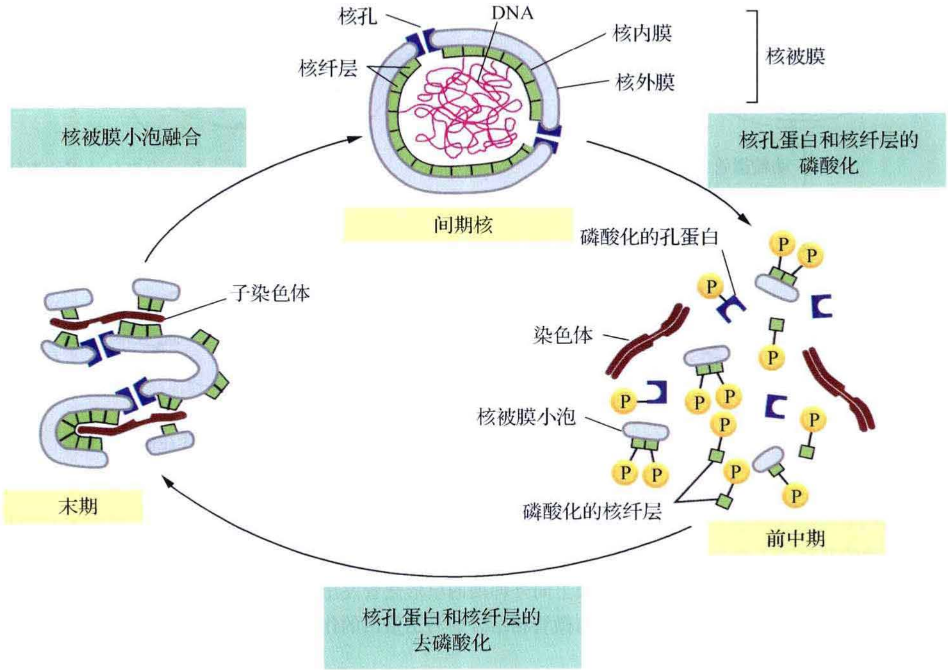


图 18-31 **有丝分裂中核被膜的破裂和重建。**在前中期，核孔蛋白和核纤层蛋白的磷酸化协助启动核被膜的降解。在末期，核孔蛋白和核纤层蛋白的去磷酸化则逆转这一过程。

18.6 胞质分裂

通过**胞质分裂**细胞质被分成两份，细胞完成了 M 期。胞质分裂通常开始于后期，直到末期两个子核形成后才完成。有丝分裂涉及一个暂时的以微管为基础的结构——有丝分裂纺锤体，而动物细胞的胞质分裂则涉及一个暂时的以肌动蛋白丝为基础的结构——**收缩环**(图 18-20)，然而胞质分裂的界面和时间点都是由有丝分裂纺锤体决定的。

18.6.1 有丝分裂纺锤体决定胞质分裂面

动物细胞胞质分裂第一个可见的标志是后期质膜发生皱折和凹陷(图 18-32)，这一凹沟总是出现在垂直于有丝分裂纺锤体长轴的方向上，保证分裂沟在两组子染色体之间切开，因而每一子细胞接受完整的等同的一套染色体。如果在凹陷沟一出现时就故意把有丝分裂纺锤体移位(使用一根极细的玻璃针)，那么开始处于形成过程中的凹陷沟就会消失，且在与新纺锤体位置和方向相对应的地方形成一新的凹陷沟。然而，一旦形成凹陷沟的过程已经顺利进行了，那么即使人为地把纺锤体吸出或用秋水仙素使其解聚，都不会影响分裂的发生。有丝分裂纺锤体如何决定分裂沟的位置仍然是个谜，但是有可能是这样的：后期阶段，星形微管和极间微管(以及结合在上面的蛋白质)发送信号给细胞皮层，在两纺锤极中间的位置起始收缩环的组装。由于这些信号产生于后期的纺锤体，故而这个机制同样对有丝分裂晚期的适时胞质分裂有作用。

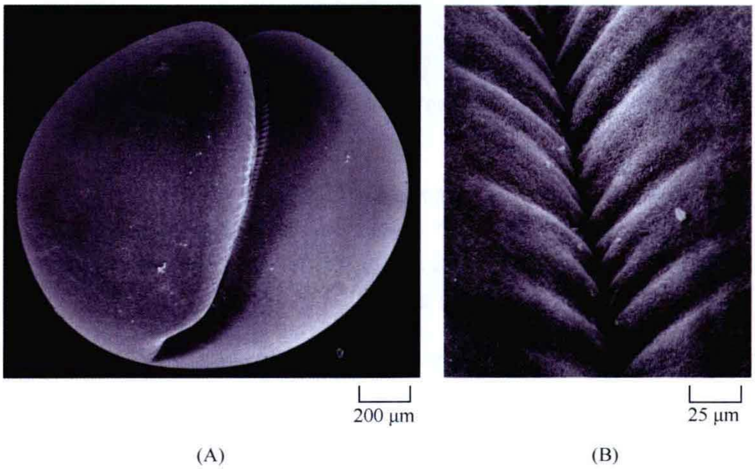


图 18-32 卵裂沟的形成由位于质膜下的收缩环的活动所致。在受精蛙卵分裂的扫描电镜照片里，分裂沟十分明显。(A)低倍镜下的卵表面；(B)高倍镜下的卵裂沟。(引自 H. W. Beams 和 R. G. Kessel, *Am. Sci.* 64：279-290，1976. 蒙 Sigma Xi 惠许)

当纺锤体位于细胞中央时如同大多数分裂细胞那样，细胞对称地分裂，产生的两个子细胞同等大小。然而，在胚胎发育时，有一些例子表明分裂中的细胞纺锤体移动到不对称位置，结果分裂沟导致产生两个大小不同的细胞。通常，它们分配到的分子也各不相同，结果发育成不同类型的细胞。在这种不对称分裂中，将有丝分裂纺锤体非圆心定位需要特殊的机制。

18.6.2 动物细胞的收缩环由肌动蛋白和肌球蛋白构成

收缩环主要由重叠排列的肌动蛋白丝和肌球蛋白丝组成(图 18-33)，它在末期组装并附着到质膜胞质面的膜相关蛋白上。一旦组装完毕，收缩环就能产生很强的力量，甚至能把胞质分裂前嵌入细胞的一根细玻璃针弄弯。这一力量像肌肉收缩时一样，是由肌动蛋白丝相对于肌球蛋白丝滑动而形成的(图 17-39)。然而，与肌肉中的收缩装置不同，收缩环是一个暂时性结构，它为执行胞质分裂而组装，当胞质分裂进行时，收缩环逐渐变小，一旦细胞变为两个，它就完全分解。

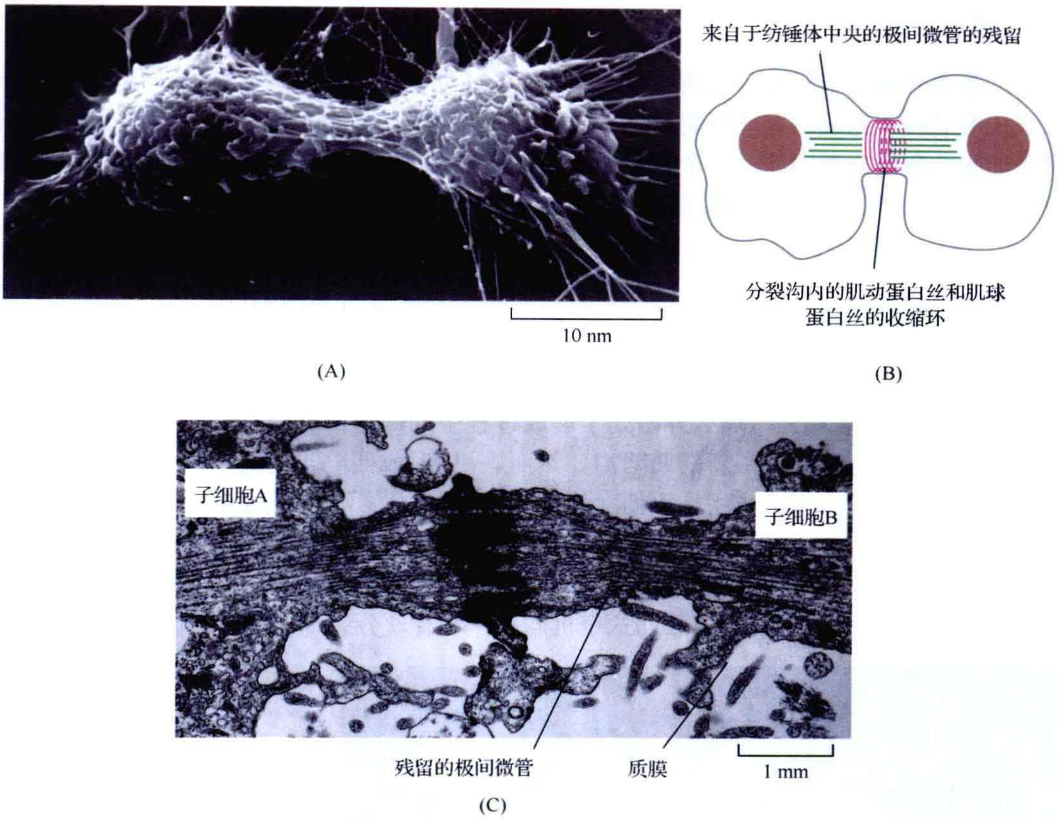


图 18-33 收缩环将细胞一分二。(A) 处于胞质分裂最后阶段的体外培养细胞的扫描电镜照片;(B) 与照片 A 相似细胞中部的示意图,显示质膜下的收缩环和残留的两套极间微管;(C) 处于分裂中的动物细胞的常规电镜照片。图中显示细胞分裂即将完成,但是两个子细胞仍由一薄层细胞质相连接,该细胞质含有残留的纺锤体中央的重叠的极间微管。(A 蒙 Guenter Albrecht-Buehler 惠许;C 蒙 J. M. Mullins 惠许)

许多动物细胞中,细胞分裂伴随着细胞形状的巨大改变和细胞对相邻细胞或者胞外基质的黏附性下降,也可能两者皆有。这些变化部分源自细胞皮层中肌动蛋白丝和肌球蛋白丝的再组建,收缩环的组装只不过是这种变化之一。例如,培养中的哺乳动物成纤维细胞在间期生长为扁平状,这是它与其赖以生长的表面(称为基底)之间有很强的黏附性接触的结果。然而当细胞进入 M 期,细胞就会变圆,至少部分原因是一些负责细胞与基底黏附的质膜蛋白——**整联蛋白**(integrin)(在第 20 章中将谈及)——被磷酸化而减弱了这种黏附作用。一旦胞质分裂完成,子细胞重新建立起它们与基底之间的强烈黏附,细胞就又变成扁平状了(图 18-34)。据推测,在动物组织中细胞分裂时,这一附着与去附着的循环使得细胞重新安排它们与邻近细胞和胞外基质的接触,从而使分裂产生的新细胞能在组织中被接纳。

18.6.3 植物细胞中胞质分裂涉及新细胞壁的形成

在高等植物中胞质分裂机制完全不同于动物细胞,这可能是由于植物细胞被一层坚韧的细胞壁所包围(在第 20 章中将谈及)。两个子细胞不是通过细胞表面收缩环的作用,而是通过在细胞内形成新的细胞壁来分开的。这一新的细胞壁的定位精确地决定两个子细胞相对于邻近细胞的位置,因此细胞分裂的界面和细胞的长大一起,决定了植物的最后形状。

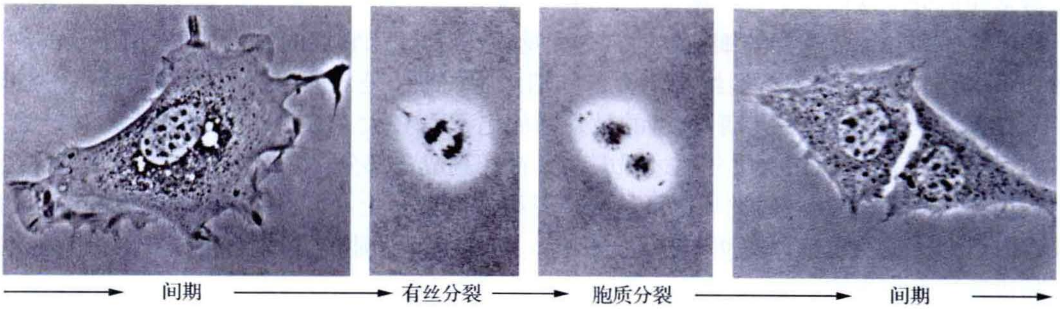


图 18-34 在 M 期，动物细胞形态发生变化。这些显微照片显示的是体外培养的一个小鼠成纤维细胞分裂。对同一细胞进行连续摄影，注意细胞在进入有丝分裂如何变圆，胞质分裂后两个子细胞又如何变扁平。（蒙 Guenter Albrecht-Buehler 惠许）

末期开始时，在两套分开的染色体中间的胞质内新的细胞壁开始形成，这一组装过程由一个被称为**成膜体**的结构指导，成膜体是由旧纺锤体赤道处极间微管的剩余物所组成。一些小型的膜被小泡（大部分来自于高尔基体且填充了形成细胞壁基质所必需的多糖和糖蛋白）沿着微管被转运至成膜体的赤道处。在那里，它们融合成一盘状的膜被结构，这一结构进一步融入小泡而向外膨胀，最后到达质膜和原有的细胞壁并把细胞一分为二（图 18-35）。随后，纤维素微丝在基质内沉积，完成新细胞壁的组建。

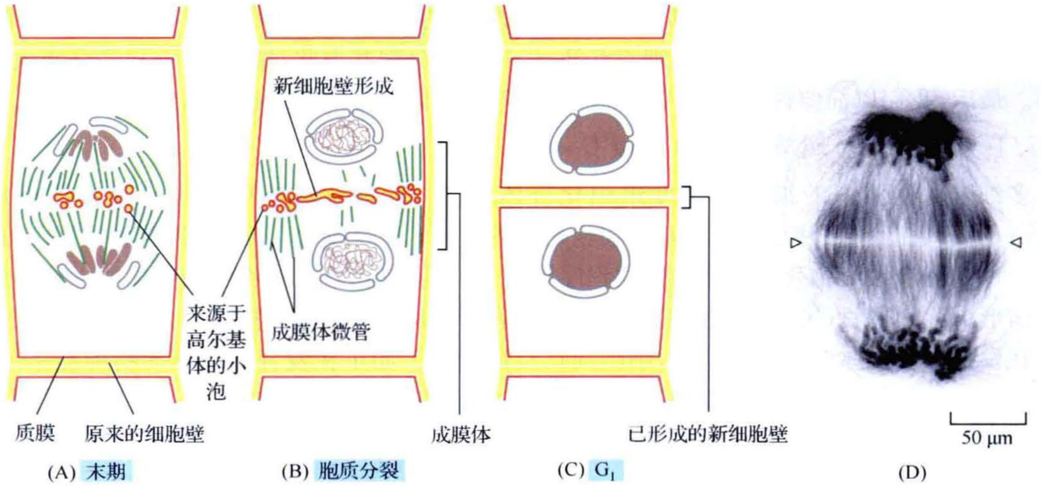


图 18-35 植物细胞中的胞质分裂由一个以微管为基础的特异的结构——成膜体引导。末期初，染色体分离后，在细胞内旧的纺锤体赤道处新的细胞壁开始组装（A）。在末期，有丝分裂纺锤体中残留的极间微管形成成膜体并引导小泡移向纺锤体中央，在这里，来自高尔基体并含有细胞壁物质的膜被小泡融合形成新的细胞壁（B），新的细胞壁向外生长到达质膜和原来细胞壁、质膜和包裹新细胞壁的膜（均为红色）相融合，完全分离为两个子细胞（C）。植物细胞分裂末期的光镜照片见（D），其所处的阶段对应于（A），图中细胞被染色以显示出微管和分别位于纺锤体两极的两套子染色体，新生成的细胞壁的位置如箭头所示。（D 蒙 Andrew Bajer 惠许）

18.6.4 细胞分裂时的被膜细胞器必须分配到子细胞中

像线粒体和叶绿体这样的细胞器是不可能从它们的个别组分自发组装的，它们只能通过已存在的细胞器的生长和分裂来产生。同样，细胞不可能制造一个新的内质网（ER）或高尔基体，除非已存在内质网或高尔基体的某些部分，然后将其扩大。那么，细胞分裂时这些不同的被膜

细胞器是如何分配从而每个子细胞都分配到一些呢?

像线粒体和叶绿体这样的细胞器通常是大量存在的,如果它们的数目在每个细胞周期中平均增加1倍,它们就会被安全地继承下去。间期细胞的ER是与核膜连续的,靠微管骨架排布(图17-18A)。当细胞进入M期,重组的微管释放出ER,在大多数处于有丝分裂中的细胞,释放出的ER保持完整,而在胞质分裂过程中,ER被切割成两部分。在有丝分裂中高尔基体会裂解为较小的片段,这些片段通过马达蛋白结合在纺锤体微管上,因而由高尔基体裂解产生的小片段经由后期拉长的纺锤体搭便车进入子细胞。当细胞分裂时,包括可溶蛋白在内的其他细胞组分随机地进入子细胞。

在讨论过细胞如何分裂后,现在我们要关注一个普遍的问题,一个动物或者一个器官的大小是如何决定的,这使我们要考虑生物如何控制细胞数量和细胞大小。

18.7 细胞数量和细胞大小的控制

小鼠的受精卵几乎与人的受精卵等大,然而成年小鼠却比成人要小很多。那么人和小鼠的细胞行为控制究竟存在着何种差异而产生如此不同的大小?在同一个体中,组织器官间也存在着同样的问题。比如,怎样从细胞行为调控上来解释大象躯干的长短,或是它的脑及肝脏的大小?目前对于这些问题虽无法全面回答,然而仍存在某些线索。三个基本过程:细胞的生长、增殖及死亡,在很大程度上决定着器官和个体的大小。每个基本过程不仅受胞内固有的机制控制,而且受到来自体内其他细胞的信号的调节。

本节我们先来讨论生物体如何通过称为*细胞凋亡*的编程性细胞死亡来除去不需要的细胞。然后我们来讨论胞外信号如何刺激细胞存活、生长及其分裂并由此对控制动物和器官的大小起作用。最后,我们以简要讨论抑制性胞外信号如何辅助监控这三个过程来结束这一节。

18.7.1 凋亡辅助调节动物细胞数目

多细胞生物体中的细胞是高度组织化群体中的一员。该群体中的细胞数被严格地控制——不仅调控细胞分裂速度,还调控细胞死亡的速度。如果细胞已不再需要,它们可以通过激活一种叫**程序性细胞死亡**的胞内死亡程序来自杀。到目前为止,动物中最常见的程序性细胞死亡情形被称为**凋亡**(来自于希腊词,意思是"脱落",像是树叶从树上掉落)。

在发育中及成体的动物组织中,细胞凋亡数量惊人。如正在发育的脊椎动物神经系统中,通常一半以上的神经细胞在形成后不久便死亡。健康成人体内每小时会有亿万个骨髓细胞及肠细胞死亡。这么多细胞死亡似乎非常浪费,特别是大部分细胞在自杀时仍相当健康,它们为何自杀?

在某些例子中,答案是明显的。在胚胎发育过程中,细胞凋亡塑造了小鼠脚趾以及我们的手和脚:最初的手和脚均呈桨状,手指和脚趾的形成是由于位于它们之间的细胞发生了死亡(图18-36)。在另一些例子中,当某一组织结构不再为生物体所需时,构成它的细胞便开始死亡。在变态中,当蝌蚪变成青蛙时,尾巴内的细胞便开始死亡,并导致尾(不再为青蛙所需要)消失(图18-37)。在这些例子中,不需要的细胞以凋亡的形式死亡。

在成熟组织中,细胞死亡恰好平衡了细胞增殖,除非该组织正在生长或萎缩。例如,如果成年大鼠一部分肝脏被切除,剩余肝细胞会增殖以弥补所遭受的损失。相反,如果让大鼠服用能刺激肝细胞分裂的药物——苯巴比妥,大鼠的肝会发生肿大。然而,停止药物处理后,肝细胞死亡便加剧,以致在一周内便能使肝回复原状。因此,通过对细胞死亡率与生成率的综合调节,肝脏保持着稳定的大小。

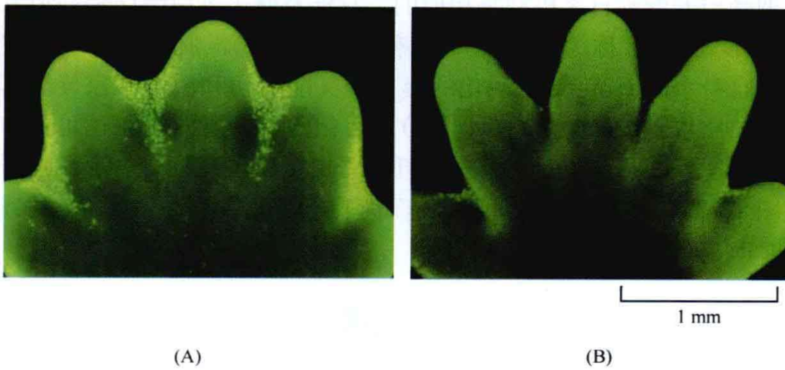


图 18-36　发育中小鼠爪上的细胞凋亡塑出趾。(A) 胎鼠爪用一种专门标记凋亡过程细胞的染料染色。凋亡的细胞在发育中的趾之间呈现出亮绿色小点；(B) 这些细胞的死亡除去了发育着的脚趾中间的组织，如一天后的兽爪所示。(引自 W. Wood et al.，*Development* 127：5245-5252，2000. 蒙 the Company of Biologists Ltd. 惠许)

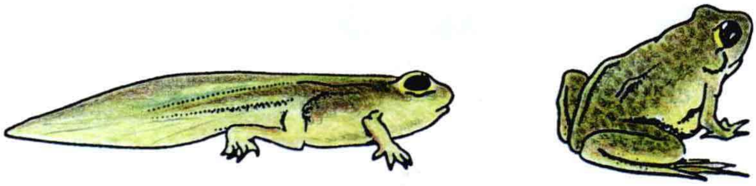


图 18-37　在蝌蚪变为青蛙期间，其尾巴上的细胞发生了细胞凋亡。变态期间出现的全部变化包括尾内细胞凋亡的诱导都是被血液中甲状腺激素含量升高所促进的。

18.7.2　胞内的蛋白质水解级联反应介导细胞凋亡

死于急性损伤的细胞一般都会肿胀、破裂并将内含物释放到周边环境，这种死亡被称为**细胞坏死**(图 18-38A)。细胞坏死会引起潜在的有破坏力的炎症反应。相反，死于凋亡的细胞则显得很“干净利落”，不会祸及周边细胞。凋亡的细胞会皱缩、凝聚(图 18-38B)，它们的细胞骨架崩溃，核被膜解聚，核 DNA 断裂成规则的小片段(视频 18.7)。更为重要的是，凋亡细胞的细胞膜表面会发生特定的变化，这种变化能使它吸引吞噬细胞(一般为特化的吞噬细胞被称为巨噬细胞，见图 15-32B)在其内容物泄漏前即将其吞噬(图 18-38C)。吞噬细胞迅速清除死细胞不但避免了细胞坏死的破坏性后果，还回收利用了凋亡细胞的有机成分。

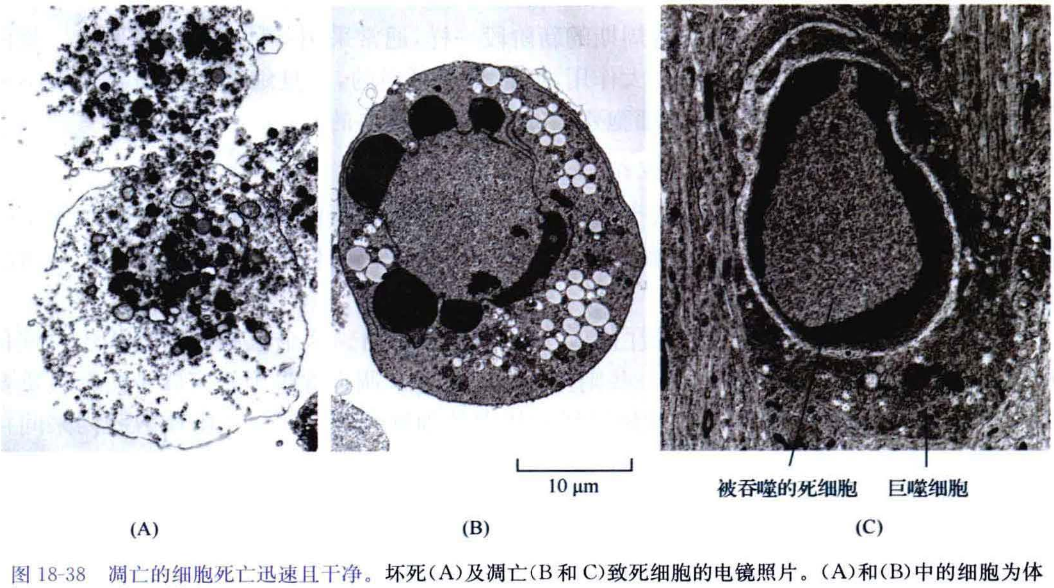


图 18-38　凋亡的细胞死亡迅速且干净。坏死(A)及凋亡(B 和 C)致死细胞的电镜照片。(A)和(B)中的细胞为体外培养条件下的死亡细胞，而(C)中的细胞则为发育组织中死亡并已被吞噬的细胞。值得注意的是，(A)中的坏死细胞发生了破裂，而(B)和(C)中的细胞已经浓缩而相当完整。(B)中细胞质所见的一些大型空泡是细胞凋亡的一个可变的特点。(蒙 Julia Burne 惠许)

在所有的动物细胞中，这种受控的细胞自杀机制是相似的。它涉及**胱天蛋白酶(caspase)**家族，其蛋白质成员以非活化前体形式合成，称为*胱天蛋白酶原*(procaspase)。胱天蛋白酶在接到引发细胞凋亡的信号后，通过自身水解而激活，而活化的蛋白酶又能剪切和激活本家族的其他成员，从而形成一个放大的蛋白质水解级联反应(图 18-39)。活化的胱天蛋白酶原还可以剪切胞内的另一些关键酶。例如，该家族的某一成员能剪切核纤层蛋白(位于核膜下方，形成核纤层)，使核纤层不可逆地崩溃(图 18-31)。如此，细胞可以快速而"干净利落"地死亡，而且它的残骸迅速地被另一细胞摄取消化。

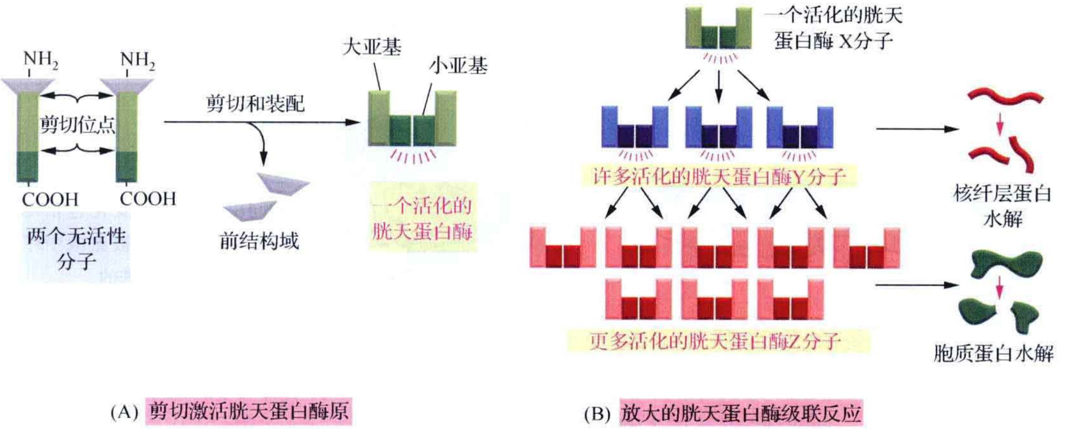


图 18-39 胞内蛋白酶级联反应介导细胞凋亡。(A) 每个胱天蛋白酶起初都以无活性的胱天蛋白酶原形式存在，它自身经常被同一蛋白酶家族中的另一个成员经蛋白酶剪切而激活：从两个胱天蛋白酶原分子上分别剪切下来两个片段组合形成一个有活性的胱天蛋白酶，它具有两个小亚基和两个大亚基，两个前结构域通常被切除；(B) 每一个活化的凋亡蛋白酶分子能剪切更多胱天蛋白酶原分子并激活它们，然后这些蛋白酶又能活化更多的胱天蛋白酶原分子。通过这种方式，起初激活少量蛋白酶分子经一种呈扩增作用的链式反应(级联反应)导致大量蛋白酶分子的暴发性激活。一些活化的蛋白酶随后分解细胞内的一些关键蛋白质如核纤层蛋白，导致细胞受控死亡。

活化凋亡程序就像进入一个细胞周期的新阶段一样，通常采用一种全或无的形式。蛋白水解级联反应不但具有破坏性和自我放大作用，而且是不可逆的，一旦细胞到达临界点便不可逆转地走向死亡。因此，严格控制触发细胞死亡的程序是很重要的。

18.7.3 胞内蛋白 Bcl2 家族调控细胞死亡程序

所有有核动物细胞均含有自我毁灭的种子，非活化的凋亡蛋白酶原在这些细胞中等待破坏细胞的信号。因此，细胞内凋亡蛋白酶的活化受到严格控制以确保死亡程序在非必要的情况下保持抑制就不令人惊讶了。

胞内蛋白 **Bcl2 家族**是调控胱天蛋白酶原活化的主要蛋白。这个家族中的某些蛋白催化胱天蛋白酶原活化以及细胞死亡，而另一些则抑制这个过程。凋亡促进因子家族中两个最重要的成员称为 Bax 和 Bak。这些蛋白通过诱导线粒体内的细胞色素 *c* 释放至胞质溶胶内来间接地激活胱天蛋白酶原。细胞色素 *c* 促进一种庞大的、类似于七叶风车一般的结构的组装，该结构可募集特殊的胱天蛋白酶原分子，形成一种被称为*凋亡小体*的蛋白复合体。胱天蛋白酶原分子在凋亡小体内被激活，触发胱天蛋白酶级联反应，导致细胞凋亡(图 18-40)。Bax 和 Bak 蛋白则被其他催化细胞死亡的 Bcl2 家族成员激活，这些 Bcl2 家族成员被细胞内各种损伤，像 DNA 损伤诱导产生或者激活。

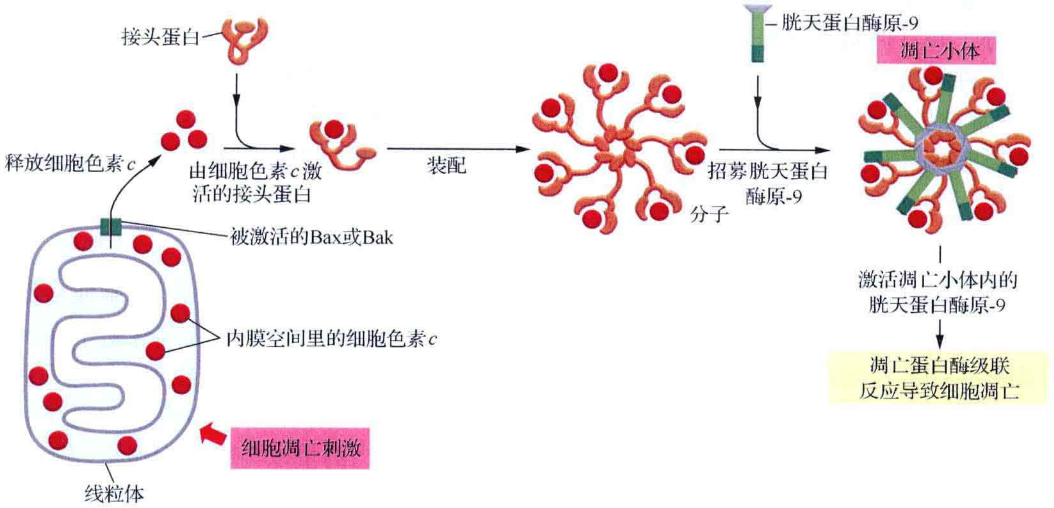


图 18-40 **Bax 和 Bak 是胞内蛋白 Bcl2 家族中的凋亡促进因子成员，能通过释放线粒体内的细胞色素 *c* 触发细胞凋亡。**当 Bak 或 Bax 因细胞凋亡刺激而被激活时，激活的 Bak 或 Bax 集聚在线粒体外膜上，导致线粒体内膜空间（此空间内还一起存在着其他蛋白质——未显示）内的细胞色素 *c* 以未知的机制被释放到胞质溶胶。然后，细胞色素 *c* 结合到接头蛋白并聚集成七臂复合物。再后，此复合物招募 7 个特殊的胱天蛋白酶原分子（称为胱天蛋白酶原-9）形成凋亡小体。在凋亡小体内的胱天蛋白酶原-9 被激活并激活胞质溶胶内的各种胱天蛋白酶原，最终导致胱天蛋白酶级联反应和细胞凋亡。

其他 Bcl2 家族成员，包括 Bcl2 本身起着抑制胱天蛋白酶原活化和细胞凋亡的作用，而不是促进作用。其抑制作用的方式之一是它们阻止 Bax 和 Bak 去释放线粒体中的细胞色素 *c*。另一些 Bcl2 家族成员促进细胞凋亡，其中有一种被称为 Bad 的蛋白，通过结合到 Bcl2（或其他抑制细胞死亡的 Bcl2 家族成员）上来抑制后者的活性（图 16-34）。Bcl2 家族中，促凋亡成员和抗凋亡成员之间的平衡在很大程度上决定着哺乳动物细胞是生存还是凋亡。

细胞内死亡程序还受到来自于其他细胞信号的调控，可以激活或抑制死亡程序。实际上，细胞存活、细胞分裂和细胞生长都受到胞外信号的调控，这些信号共同协助多细胞生物控制其细胞数量和细胞大小。下面我们就来具体讨论。

18.7.4 动物细胞需要胞外信号来进行生存、生长和分裂

诸如细菌和酵母一类的单细胞生物倾向于尽可能快地生长和分裂，并且其增殖速率在很大程度上取决于环境中的养分供应。相反，多细胞生物中，细胞的生长和分裂是受控制的，因此，只有当细胞为生物体所必需时，该细胞才能存在；只有当生物体需要细胞增殖（组织生长需要或补充细胞损失）时细胞才能分裂，而为了组织生长或细胞替换需要而分裂的细胞，在其分裂之前必须先生长。因此，对于动物细胞的生存、生长或分裂，仅仅有养分是不够的，还需要接受到源于其他细胞，常常是邻近细胞的化学信号。

大多数对细胞生存、细胞生长和细胞分裂有作用的胞外信号分子是一种由其他细胞分泌的可溶性蛋白或者是一种结合在其他细胞表面或胞外基质的蛋白。大多数胞外信号分子对这些细胞进程或多或少有积极的刺激作用，而有些则消极地抑制某种特定的细胞进程。对细胞进程有积极刺激作用的信号蛋白可以根据其功能，分为三个主要类别：

（1）**存活因子**主要通过抑制细胞凋亡来使细胞存活；

（2）**促有丝分裂因子**刺激细胞分裂，主要通过抑制胞内阻碍细胞周期行进的制动装置来起作用；

(3) **生长因子**刺激细胞生长(增大细胞体积以及细胞质量)通过促进合成蛋白质以及其他生物大分子并且抑制其降解来起作用。

由于许多信号分子拥有不止一种上述功能,故而这些类别并不相互排斥。不幸的是,“生长因子”常常被扩大词义,用来描述拥有任何一种上述功能的蛋白质。事实上,“细胞生长”一词常常不恰当地被用来表示细胞数量的增长,而表述细胞数量增长更恰当的词语应该是“细胞增殖”。

在下一部分,我们将逐一讲解每种信号分子。

18.7.5 动物细胞需要存活因子以免于凋亡

动物细胞需要来自其他细胞的信号以维持存活。如果没有这些存活因子,细胞便会激活胞内的自杀程序并以细胞凋亡的形式死亡。这种对来自于其他细胞信号的需求有助于保证细胞只在需要它们的时间和地点存活。例如,在神经系统发育中生成过量的神经细胞,然后它们竞争与它们接触的靶细胞分泌出的有限的存活因子。接收到足够存活因子的神经细胞存活而另一些则凋亡。这样,存活的神经细胞数可以自动地调整到恰当的量以与靶细胞连接(图 18-41)。在发育中及成体的组织中也有相似的依赖于邻近细胞的存活信号来控制细胞数量的现象。

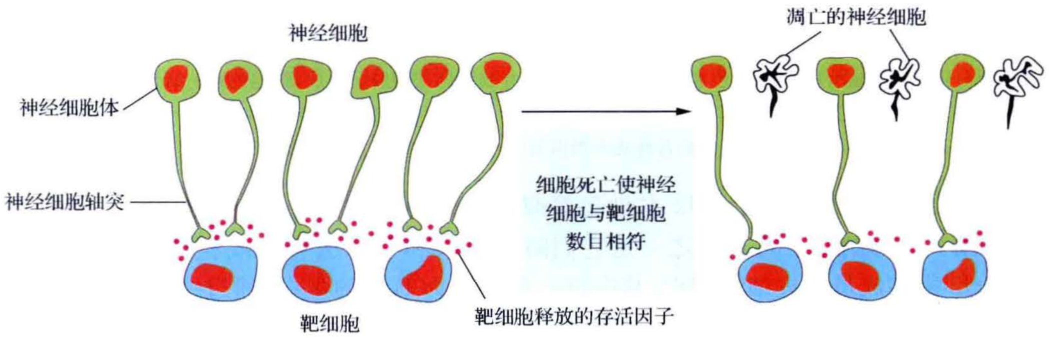


图 18-41 细胞死亡有助于调整发育中的神经细胞数目与它们接触的靶细胞数目相匹配。产生的神经细胞多于能被靶细胞释放的有限的存活因子所支持的神经细胞。因此,如果某些神经细胞不能接收到足够量的存活因子来抑制自杀程序的话,它们便走向细胞凋亡。此种先大量产生而后削减的策略能确保所有的靶细胞都有相应的神经细胞与之结合,而多余的神经细胞则自动消除。

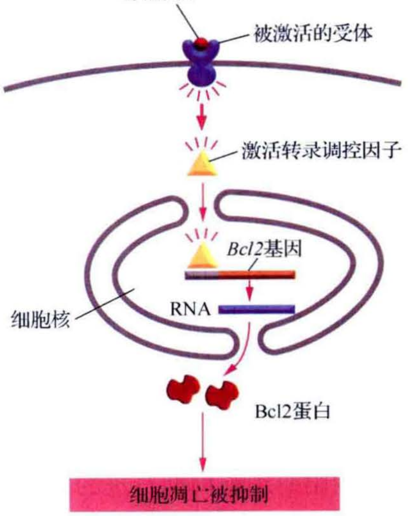


图 18-42 存活因子常通过调节 Bcl2 家族成员来抑制细胞凋亡。在这个例子中,被激活的受体激活细胞质中的转录调控因子,该蛋白转移到细胞核内激活编码 Bcl2 的基因,该基因编码的蛋白则能抑制细胞凋亡。

存活因子一般通过结合到细胞表面受体来起作用，然后这些被激活的受体打开胞内信号通路，一般通过调节 Bcl2 蛋白家族成员来维持抑制死亡程序。另外一些存活因子通过增加 Bcl2 的合成来抑制细胞的凋亡(图 18-42)。

18.7.6 促有丝分裂因子促进细胞分裂

大多数促有丝分裂因子是结合在细胞表面受体的分泌型信号蛋白上。当促有丝分裂因子结合到受体上并导致其激活时，这些激活的受体启动多条胞内信号通路(第 16 章中讨论)，促进细胞分裂，而这些信号通路的作用主要是通过释放那些阻断细胞周期从 G_1 期到 S 期的分子刹车来实现的。

成视网膜蛋白瘤蛋白(Rb)是分子刹车一个重要的例子，首先是在对一种罕见的儿童眼瘤——视网膜母细胞瘤的研究中发现的，这种患者体内的 Rb 蛋白缺失或存在缺陷。所有脊椎动物细胞核都含有丰富的 Rb 蛋白，它与特定的转录调控蛋白相结合，阻止后者刺激那些为细胞增殖所必需的基因的转录。促有丝分裂因子以以下方式释放 Rb 刹车。它们刺激那些导致激活前面提到的 G_1-Cdk 和 G_1/S-Cdk 复合物的胞内信号通路，这些复合物可使 Rb 蛋白磷酸化，改变其构象，从而释放它所结合的转录调控蛋白。游离的转录调控蛋白便可激活细胞增殖所需的基因(图 18-43)。

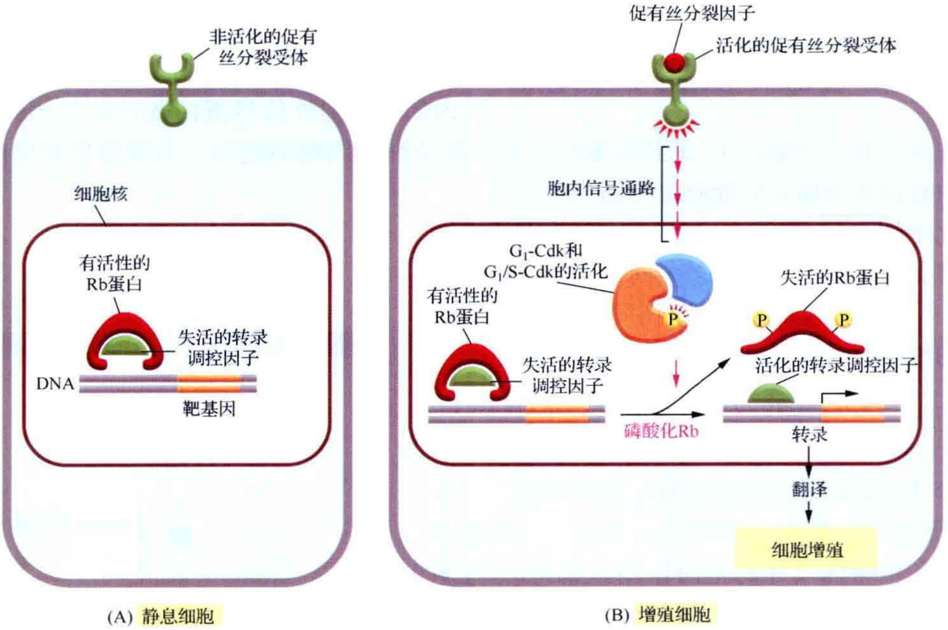


图 18-43 促有丝分裂因子刺激细胞增殖的途径之一是通过抑制 Rb 蛋白来实现的。(A) 不存在促有丝分裂因子时，未磷酸化的 Rb 蛋白使特定的转录调控因子保持在非活性状态；这些转录调控因子对于激活一些编码细胞增殖所需蛋白质的靶基因的转录是必需的；(B) 促有丝分裂因子与细胞表面受体相结合，激活胞内信号通路，导致 G_1-Cdk 和 G_1/S-Cdk 复合物的形成和活化。这些活化的复合物能磷酸化 Rb 蛋白，使之失活。这些转录调控因子现在可以自由地去激活其靶基因的转录，导致细胞增殖。

大多数促有丝分裂因子是由于其能对体外培养细胞的作用而被发现和鉴定的(图 18-44)。以这一方式鉴定的促有丝分裂因子之一是血小板衍生生长因子(PDGF)，它的作用是许多迄今发现的促有丝分裂因子的典型代表。当血凝块形成时(如在伤口内)，血凝块中的血小板被刺激释放 PDGF，PDGF 可与伤口周围活细胞上的受体酪氨酸激酶结合(详见第 16 章)，并促进细胞

增殖和伤口愈合。类似地，当由于急性损伤或外科手术使肝部分切除时，肝中及其他地方的活细胞会分泌肝细胞生长因子，以刺激肝细胞的增殖。

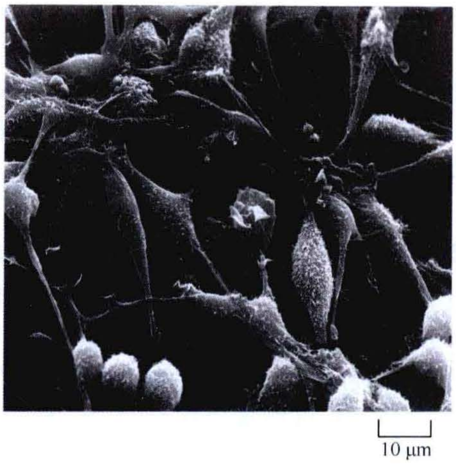


图 18-44　大鼠成纤维细胞响应生长因子和促有丝分裂因子，进而增殖。扫描电镜中的细胞培养在含有牛血清的培养基中，该血清含有能刺激细胞生长和增殖的生长因子和促有丝分裂因子。图下方的球形细胞开始变圆，准备细胞分裂（见图 18-34）。（蒙 Guenter Albr-echt-Buehler 惠许）

18.7.7　生长因子刺激细胞生长

生物体或器官的生长依赖于细胞生长和细胞分裂。如果只有细胞分裂而没有细胞生长，细胞将逐渐缩小而且总细胞质量没有增长。像酵母这样的单细胞生物体的细胞生长（像细胞分裂）只取决于营养条件。相比之下，动物细胞的生长和分裂依赖于其他细胞的信号。然而，无论是酵母或动物细胞，细胞生长并不像细胞分裂那样依赖于细胞周期控制系统。实际上，包括神经细胞和大多数肌肉细胞在内的许多动物细胞在成为专一性细胞后不再分裂，只营生长。

像大多数存活因子和促有丝分裂因子那样，大多数胞外生长因子与刺激多条胞内信号通路的细胞表面受体结合。这些通路以增加蛋白质及其他大分子合成的速率并降低其降解的速率致使这些大分子积聚（图 18-45）。包括 PDGF 在内的一些胞外信号蛋白既可以作为生长因子也可以作为促有丝分裂因子，既刺激细胞生长又推动细胞周期的进行。当细胞增殖的时候，这样的蛋白有助于确保它们能够维持适当的尺寸。

相比于细胞分裂，令人吃惊的是在动物体内细胞的尺寸是如何被控制的这一问题很少被研究。因此，这一问题仍然是个谜，即在同一动物体内不同类型的细胞会长成如此不同的大小（图 18-46）。

18.7.8　一些胞外信号蛋白抑制细胞存活、细胞分裂或细胞生长

迄今为止，我们讨论过的胞外信号蛋白——存活因子、促有丝分裂因子以及生长因子——都是起增大器官和生物体尺寸的正向作用。然而，一些胞外信号蛋白起着拮抗这些正调节因子的作用，因此抑制组织的生长。例如，肌生成抑制素是一种分泌型信号蛋白，一般抑制成肌细胞（在哺乳动物发育过程中，成肌细胞融合形成骨骼肌细胞）的生长和增殖。小鼠中编码肌生成抑制素的基因被敲除后，它们的肌肉增长到数倍于普通小鼠，因为肌肉细胞无论在数量上还是大小上都有增加。值得注意的是，能够长出大块肌肉的两种牛被证明其编码肌生成抑制素基因突变（图 18-47）。

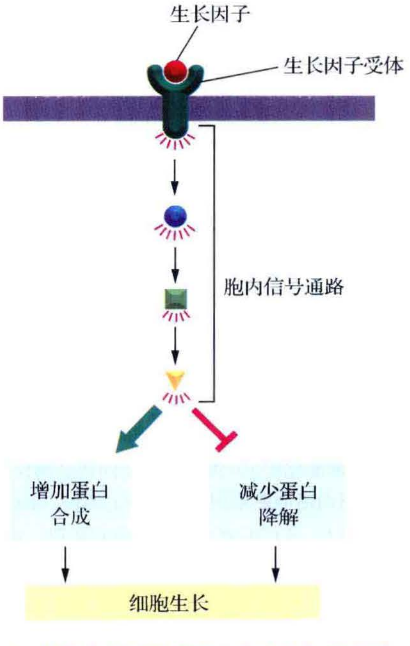


图 18-45　胞外生长因子增加大分子的合成并减少其降解。这导致大分子的净增加，从而细胞开始生长（同样可见图 16-35）。

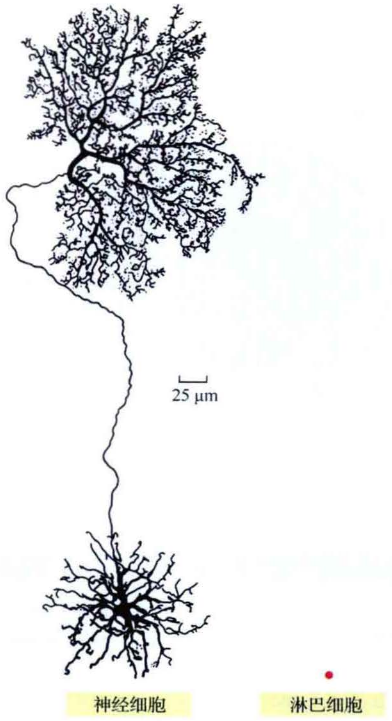


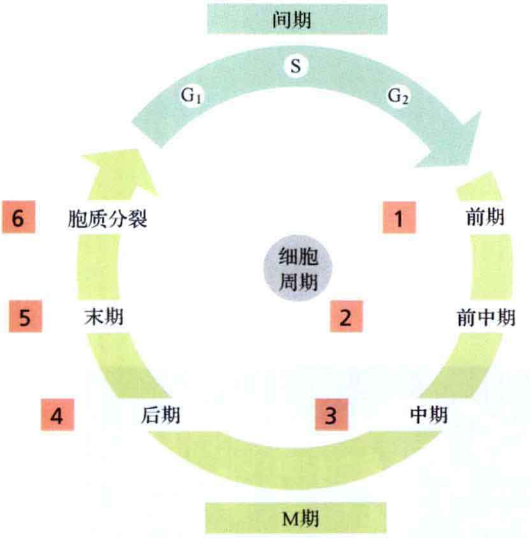
图 18-46　一个神经细胞和一个淋巴细胞的大小完全不同。这两种细胞是在同一标尺下画出的，它们都取自于同一种猴子并且含有一样多的 DNA。在神经细胞永久停止分裂之后，它能逐渐地长大。在此期间，细胞质与核之比急剧增大——对于一些神经细胞，质核比可以增大到 10^5。［神经细胞来自于 B. B. Boycott 关于神经系统的短文(R. Bellairs 和 E. G. Gray 等)。Oxford，U. K.：Clarendon Press，1974. 蒙 Oxford University Press 惠许］

图 18-47　肌生成抑制素的突变导致肌肉量急剧增加。Belgian Blue 是家养牛的后代，只是后来才发现其肌生成抑制素基因发生了突变。人为突变同一基因的小鼠也拥有明显的大块肌肉。(来自于 HL Sweeney，*Sci. Am.* 291：62-69，2004. 蒙 Scientific American 惠许)

现在我们讨论本章最后一节，癌症同样是突变的产物，使细胞脱离正常的细胞存活、生长以及增殖的“社会性”控制。癌细胞相比于正常细胞一般更少依赖于来自其他细胞的信号，因此它们比起它们的邻居来可以过度存活、过度生长以及过度分裂，产生的肿瘤能够杀死宿主。

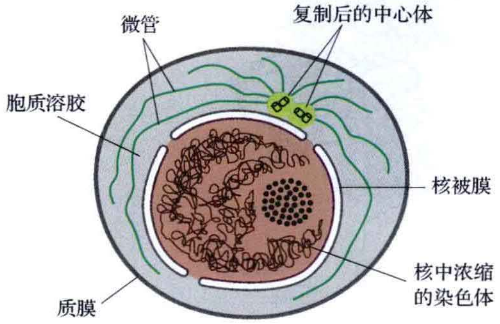
在这章中，当我们讨论细胞分裂时，我们一直在谈论普通的分裂，它产生两个子细胞，每一个细胞都含有与母细胞一样的完整的遗传物质。然而，还存在一种与众不同的，非常特殊的细胞分裂类型，称为减数分裂，其对于真核生物有性繁殖来说是必需的。在下一章，我们将描述这一特殊的减数分裂的特点以及它们如何成为遗传法则的基础并定义该法则。

细胞分裂和细胞周期



在细胞周期的M期，一个细胞分裂为两个子细胞。M期包括核分裂，或称有丝分裂，和细胞质分裂，或称胞质分裂。在本图中，为了解释清楚，我们把M期延长。有丝分裂分为5期，此图版描述这5期以及胞质分裂。

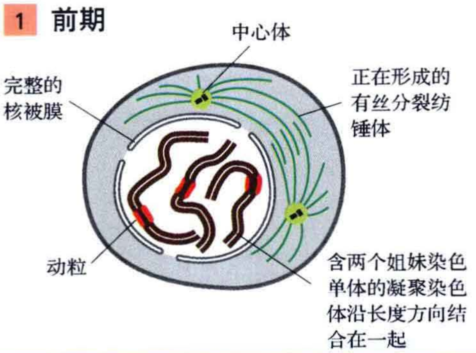
间期



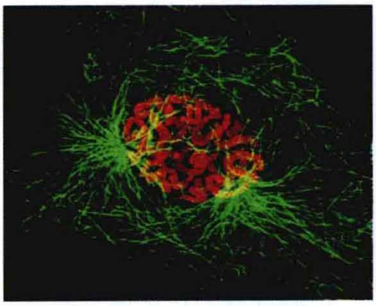
细胞在间期变大。染色体DNA被复制，中心体也被复制。

图版中的光学显微镜照片分裂的动物细胞染成橙色，微管为绿色。(Julie Canman和Ted Salmon的显微镜照片；“中期”的照片来自J.Cell.Sci.115(9), 2002的封面，经Biologists Ltd公司的许可；“末期”的照片来自J.C.Canmanet al., *Natural* 424: 1074-1078, 2003, 经Macmillan Publishers Ltd的许可)

1 前期

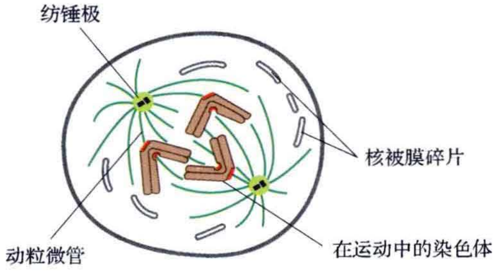


在前期，每一复制好的染色体包含两个紧密相连的姐妹染色单体，它开始凝聚。核外有丝分裂纺锤体在两个复制后分开的中心体间组装。为简单起见，只画了3条染色体。

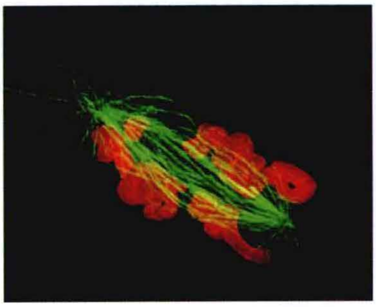


时间=0 min

2 前中期

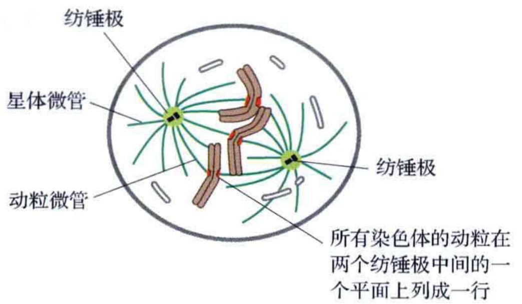


前中期开始于核被膜的突然崩解。现在染色体能通过动粒附着于纺锤体微管并进行活跃运动。

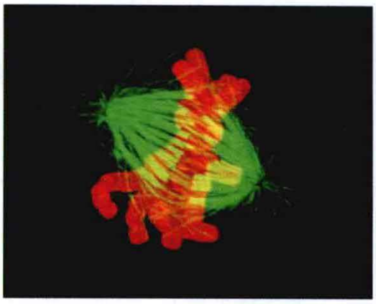


时间=79 min

3 中期

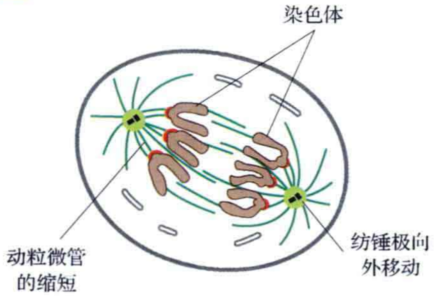


染色体在纺锤体中央处即赤道板处列成一行。每一条染色体上成对的动力微管附着于相反的纺锤极。

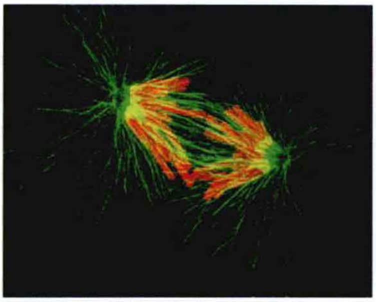


时间=250 min

4 后期

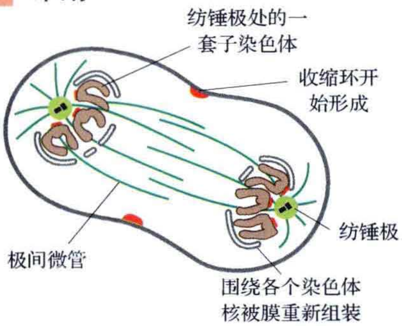


在后期，配对的染色单体同时分离，每一套染色体被缓慢拉向它所附着的纺锤极。动粒微管逐渐变短且纺锤极也互相分离，两者都对染色体的分离作出了贡献。

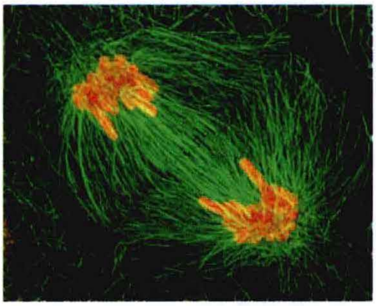


时间=279 min

5 末期

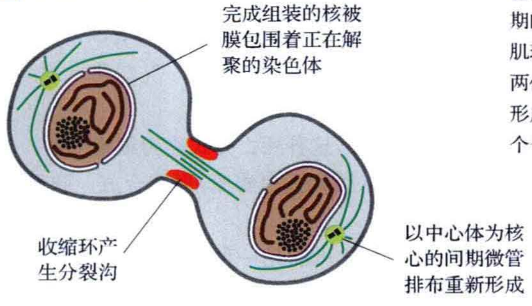


同在末期，两套子染色体到达纺锤极。围绕每一套染色体重新组装形成核被膜，形成两个核，标志着有丝分裂的结束。细胞质的分裂随着收缩环的组装而开始。

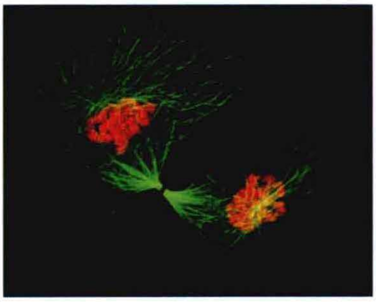


时间=315 min

6 胞质分裂期



在一个动物细胞的胞质分裂期间，细胞质被肌动蛋白和肌球蛋白构成的收缩环分为两份，收缩环在细胞内收缩，形成各含有一个细胞核的两个子细胞。



时间=362 min

- 真核细胞周期由几个不同的阶段组成，包括 S 期（核 DNA 的复制）、M 期（核分裂，即有丝分裂）和细胞质分裂（胞质分裂）。
- 在大多数细胞中，有一个间隙期 G_1 期，位于 M 期和 S 期之间，另外一个 G_2 期位于 S 期和 M 期之间，这些间隙期给细胞生长以及为 S 期和 M 期做准备提供了更多的时间。
- 细胞周期控制系统通过顺序地周期性地启动细胞周期机构的适当部分并随后关闭它们，从而协调细胞周期中的各事件。
- 控制系统依赖于一套蛋白激酶，每一蛋白激酶含有一个调节亚基（细胞周期蛋白）和一个催化亚基（依赖细胞周期蛋白的蛋白激酶，即 Cdk）。
- 细胞周期蛋白浓度在细胞周期特定时段升降，协助启动细胞周期的不同事件。Cdk 通过与细胞周期蛋白结合和某些氨基酸的磷酸化及另一些氨基酸的去磷酸化，从而被周期性地激活。Cdk 在活化后使胞内的重要蛋白质磷酸化。
- 不同的细胞周期蛋白-Cdk 复合物启动细胞周期的不同事件：M-Cdk 驱动细胞进入有丝分裂期；G_1-Cdk 驱动细胞通过 G_1 期；G_1/S-Cdk 和 S-Cdk 驱动细胞进入 S 期。
- 在细胞周期的特定时段，控制系统也利用蛋白复合物来启动某一细胞周期调节蛋白质的水解。
- 细胞周期控制系统能在特殊检查点处暂停细胞周期以确认胞内和胞外环境是否适宜，并确保细胞周期的下一步骤不会在前一步骤完成前开始。其中一些检查点依赖于能够阻抑一种或多种周期蛋白-Cdk 复合物活性的 Cdk 抑制蛋白。
- 在 S 期期间，S-Cdk 启动 DNA 复制并确保基因组只复制了一次。G_1 期、S 期以及 G_2 期的检查点防止细胞复制受损的 DNA。
- M-Cdk 驱动细胞进入有丝分裂期并装配由微管构成的有丝分裂纺锤体，它把子染色体拉向细胞的相反两极。
- 复制过的中心体向外伸展出微管，来自一个中心体的微管和一些来自另一个中心体的微管相互作用，形成纺锤体的极间微管。
- 中心体、结合在微管上的马达蛋白以及复制过的染色体自身一起协作形成纺锤体。
- 核被膜破裂后，纺锤体微管侵入核区并捕获复制好的染色体。微管结合到被称为动粒的蛋白复合物上，该复合物与每一姐妹染色单体的着丝粒相连。
- 来自相对两极的微管从相反方向作用于每一复制后的染色体，把染色体带至有丝分裂纺锤体的赤道板处。
- 姐妹染色单体突然分开产生子染色体，它们被纺锤体拉向两极。同时，纺锤体两极也逐渐分开，进一步分离两套染色体。
- 染色体通过纺锤体的移动是由微管马达蛋白和微管的装配和解聚来驱动的。
- 在两套分离的染色体周围重新形成核被膜，从而形成两个新核，进而完成了有丝分裂。
- 在 M 期，高尔基体分裂成许多小碎片以确保在子细胞间平均分配。
- 动物细胞中，胞质分裂是由肌动蛋白丝和肌球蛋白丝组成的收缩环完成的。收缩环在纺锤体两极间的中央处形成，然后它不断收缩，把细胞质一分为二。相比之下，植物细胞在细胞内部形成新的细胞壁，后者把细胞质分为两半而完成细胞分裂。
- 动物细胞的个数由胞内程序和胞外信号所共同调节，控制细胞存活、细胞生长和细胞增殖。
- 在一个动物的一生中，许多正常细胞可通过激活自身胞内自杀程序而死亡，这种死亡方式称为细胞凋亡。
- 细胞凋亡依赖于被称为胱天蛋白酶的蛋白水解酶，这些酶以非活化前体（胱天蛋白酶原）形式合成。胱天蛋白酶原通过由凋亡蛋白介导的蛋白水解而活化。
- 大多数动物细胞需要不断接受来自于其他细胞的信号以免于细胞凋亡，这可能是一种保障机制，确保细胞只存活于需要它们的时空中。
- 动物细胞只有在其他细胞分泌的胞外促有丝分裂因子的刺激下才增殖，以确保一个细胞只有在其他细胞需

要时才开始分裂；促有丝分裂因子激活胞内信号通路以解除各种阻碍细胞周期进行的一般性限制因素。

- 对于生物体或器官的生长，细胞必须生长和分裂。动物细胞的生长依赖于刺激蛋白质合成并抑制蛋白质降解的胞外生长因子。
- 细胞和组织的大小同样受到抑制性胞外信号蛋白的影响，这些蛋白拮抗细胞存活、细胞生长以及细胞分裂的正向调节因子。
- 肿瘤细胞在细胞行为上不服从正常的“社会性”控制，因此相比于正常细胞，肿瘤细胞往往过度生长、过度分裂以及过度存活。

关键词

Bcl2 家族	M 期	动粒	起始点识别复合物(ORC)	有丝分裂
Cdk(细胞周期蛋白	M 期细胞周期蛋白	纺锤极	前期	有丝分裂纺锤体
依赖性激酶)	p53	胱天蛋白酶	前中期	中期
Cdk 抑制蛋白	S-Cdk	后期	染色体浓缩	中心体
G_1-Cdk	S 期	后期促进复合物(APC)	生长因子	中心体周期
G_1/S-Cdk	S 期细胞周期蛋白	间期	双向定位	
G_1/S 细胞周期蛋白	胞质分裂	检查点	细胞凋亡	
G_1 期	成膜体	姐妹染色单体	细胞周期	
G_1 期细胞周期蛋白	程序性细胞死亡	末期	细胞周期蛋白	
G_2 期	促有丝分裂因子	黏结蛋白	细胞周期控制系统	
M-Cdk	存活因子	凝缩蛋白	星状体	

问题

问题 18-1 思考下列陈述：所有现存细胞都由一系列不间断的细胞分裂产生，这可上溯至第一次细胞分裂。这正确吗？

问题 18-2 一群增殖中的细胞值被一种与 DNA 结合会有荧光的染料染色，所以荧光量直接与每个细胞的 DNA 量成正比。为了测出每个细胞的 DNA 含量，细胞通过流式细胞仪，该仪器可检测到单个细胞的荧光量。给出的细胞 DNA 含量的数值绘制在所示的图上。

请在图上注明在哪里你能够找到以下时期的细胞：G_1 期、S 期、G_2 期以及有丝分裂期。在这个细胞群体中哪个是细胞周期中最长的时期。

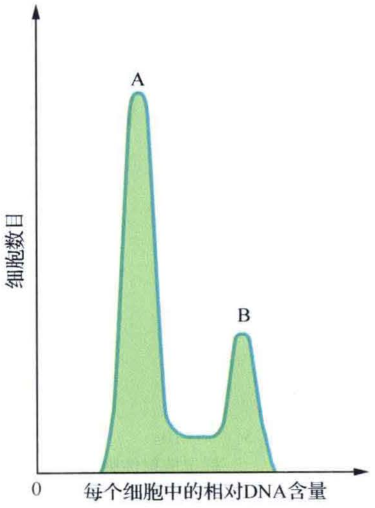


图 Q18-2

问题 18-3 为什么你假设细胞已经进化出一个特殊的 G_0 状态从细胞周期退出，而不是在一个 G_1 期检查点停止在 G_1 状态？

问题 18-4 如果损伤了的 DNA 在修复之前被细胞复制，后果会是什么？

问题 18-5 来自一个有丝分裂细胞的细胞质的一小部分被注入一个未受精的爪蟾卵母细胞中，导致卵母细胞进入 M 期（图 18-7A）。然后取出该卵母细胞的一点儿细胞质，并注入第二个卵母细胞，导致这个细胞也进入 M 期。这个过程重复了很多次直到基本上没有初始蛋白样本遗留，然而，从这一系列卵母细胞注射的最后一个取出的细胞质仍然能以丝毫不减的效率触发进入 M 期。解释这个值得注意的现象。

问题 18-6 如果在早 M 期用极细的玻璃针操作活细胞中的染色体,有可能使两条姐妹染色单体上的动粒附着于同一个纺锤极。这一结果通常是不稳定的,但如果用针小心地拉住染色体使得附着于两个动粒也处于同一纺锤极的微管处于一定的紧张度下,这种附着则可以被稳定。这一现象给予你有关动粒通常只与来自相反纺锤极的微管结合并保持结合这一机制什么启发?这一发现与一个动粒注定附着于来自特定一极的微管是否相一致?解释你的理由。

问题 18-7 考虑以下在末期导致新核形成的事件。细胞核和细胞质蛋白是如何正确地重新分选以使新核包含核蛋白而不是胞质蛋白的?

问题 18-8 画一个详细示意图,说明植物细胞分裂时分开两个子细胞的新细胞壁的形成(图 18-35),特别要显示出来源于高尔基体小泡上的膜蛋白抵达的地方,以表明那些暴露于高尔基体内膜上的膜蛋白所发生的事件(如需要回忆膜结构请参见第 11 章)。

问题 18-9 在细胞分裂中高尔基体被认为是通过随机分配产生于有丝分裂的小碎片来进入子细胞的。请解释为什么随机分配染色体是行不通的。

问题 18-10 为什么认为细胞凋亡与细胞坏死是不同的死亡机制?细胞凋亡是以干净而有条理的方式完成的,据此细胞从内部破坏其自身并避免细胞内容物泄漏至胞外空间。如果不是采用这种方式,将会发生什么后果?

问题 18-11 如果每个细胞刚分裂后质量为 1 ng,而每一个细胞周期为 24 h,大约多少时间后人的单个受精卵通过连续的分裂可产生一堆 70 kg 的细胞?为什么产生一个 70 kg 的成年人需要比这长得多的时间?

问题 18-12 所有最短的真核细胞分裂周期(甚至比许多细菌要短)发生在多种动物的早期胚胎中。这些称为卵裂的分裂发生没有明显增加胚胎的质量,这是如何做到的?你推测细胞周期中的哪一期可能被最大限度地缩短了?

问题 18-13 大剂量电离辐射的一个重要生物学效应是阻断细胞分裂。

A. 这是怎么发生的?

B. 如果细胞发生了一种突变使细胞无法停止细胞分裂,该细胞受到照射后会发生什么情况?

C. 如果 B 中的突变细胞未经照射,该突变将会有什么样的生物学效应?

D. 如果成人接受大剂量的照射而使体内细胞停止分裂,他在几天内便会死亡。这告诉了你什么(除了应避免大剂量辐射之外)?

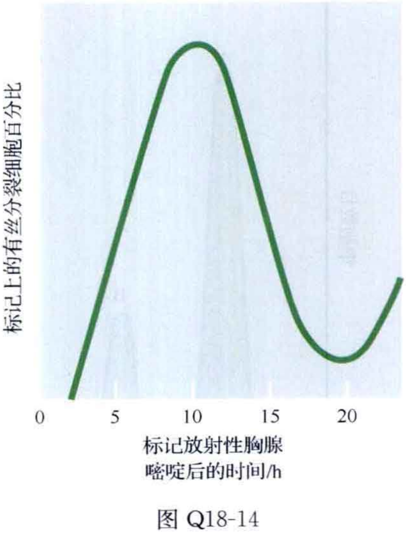


图 Q18-14

问题 18-14 如果细胞培养在含有放射性标记胸腺嘧啶的培养基内,则在 S 期,标记的胸腺嘧啶就会共价掺入到细胞的 DNA 中。一个细胞核中的放射性 DNA 可以用放射自显影的方法来检测(也就是将照相感光剂覆盖在细胞上,放射性的细胞激活感光剂,在显微镜下显示为黑点)。做一个简单的实验,用上述方法对细胞进行短时间(大约 30 min)放射性标记。然后更换成无放射性胸腺嘧啶的细胞培养基再培养一段时间。在更换培养基后的不同时间点在显微镜下观察细胞的标记情况。测定处于有丝分裂中的细胞核(易于识别,因为细胞呈圆形且它们的染色体凝聚着)带有放射性 DNA 的百分率,并作放射性胸腺嘧啶标记后时间的函数(图 Q18-14)。

A. 标记后,是不是所有细胞(包括所有处在细胞周期不同时相的细胞)都含有放射性 DNA?

B. 刚开始不存在含放射性 DNA 的有丝分裂细胞(图 Q18-14)。这是为什么?

C. 对曲线的升降变化做出解释。

D. 利用图中数据,估计 G_2 期的长短。

问题 18-15 M-Cdk 的功能之一是在 M 期中期使 M-cyclin 的含量急剧下降。描述一下 M-cyclin 含量急剧下降会发生什么样的后果,并阐述其可能的机制。

问题 18-16 图 18-5 中显示在细胞周期过程中胞内细胞周期蛋白浓度的升高以及 M-Cdk 活性的增强。由图可见，细胞周期蛋白的含量是缓慢而平稳地升高的，而 M-Cdk 的活性则是突然增强的。为什么会有这样的差异？

问题 18-17 请排序在细胞分裂期间发生的以下事件：

A. 后期

B. 中期

C. 前中期

D. 末期

E. 新月期

F. 有丝分裂

G. 前期

胞质分离应该放在哪里？

问题 18-18 在哺乳动物细胞中，微管在聚合形成和通过解聚而自发消失之间的时间因在细胞周期的不同阶段而不同。对于一活跃生长的细胞，这一时期在间期平均为 5 min，而在有丝分裂时则为 15 s。如果间期微管平均长度为 20 μm，并且假定由于微管蛋白亚基添加所导致的微管延长速率在两个时期相同，那么在有丝分裂时微管的平均长度为多少？

问题 18-19 正端导向和负端导向的马达蛋白都结合在有丝分裂纺锤体交叠区域的极间微管上，它们两者之间的平衡被认为能够确定纺锤体主轴的长度。每种类型的马达蛋白对确定纺锤体主轴的长度各作出怎样的贡献？

问题 18-20 用图版 18-1 作样本，草绘一下有丝分裂各主要阶段。以某种颜色标记其中一条姐妹染色单体，并在有丝分裂和胞质分裂过程中进行追踪。什么事件注定了这条染色单体被分配到一个特定的细胞中？一旦决定后，它的命运能否逆转？什么因素会影响这一决定？

问题 18-21 后期 A 中染色体的极向运动与微管缩短相结合，特别是微管附着于动粒那一端的解聚。草绘一个模型，以阐明微管如何缩短并产生拉力，却又能够始终紧密附着于染色体。

问题 18-22 同一染色体的两份拷贝一起进入同一子细胞是一种罕见的现象。这是怎么发生的？这一错误的有丝分裂后果是什么？

问题 18-23 下列哪项陈述是正确的？解释一下你的理由。

A. 在 M 期起始之前中心体就被复制了。

B. 两条姐妹染色单体通过同一条染色体 DNA 的复制产生，并且相互配对排列于中期板上。

C. 两极之间的微管头对头接，因此它从一纺锤极到另一纺锤极是连续存在的。

D. 微管的聚合、解聚以及微管马达蛋白是 DNA 复制所必需的。

E. 微管在着丝粒成核化并连接至动粒，后者是染色体上中心体区的结构。

问题 18-24 针对肌球蛋白的抗体能阻断肌球蛋白分子沿着肌动蛋白丝的运动（肌动蛋白和肌球蛋白的相互作用在第 17 章中描述）。试想抗体是如何起作用的？给细胞注射这种抗体对（A）后期染色体的运动或（B）胞质分裂的后果如何？并说明理由。

问题 18-25 仔细观察图 18-38 中的电镜照片，描述坏死细胞及凋亡细胞之间的差别。此图如何证实这两种过程的区别？说明你的答案。

问题 18-26 下列哪些描述是正确的？为什么？

A. 除非有充足的养分支持完成整个细胞周期，否则细胞不会从 G_1 期进入 M 期。

B. 细胞凋亡是由一类特殊的胞内蛋白酶介导的，其中一个成员能降解核纤层蛋白。

C. 发育中的神经元竞争有限数量的存活因子。

D. 某些脊椎动物的细胞周期调控蛋白在酵母细胞中表达时起作用。

E. 有可能研究那些细胞周期调控蛋白有缺陷的酵母突变体，尽管这些蛋白质是细胞存活所必需的。

F. 已结合在 Cdk 上的细胞周期蛋白及其 Cdk 的磷酸化状态两者决定一个 Cdk 蛋白的酶活性。

问题 18-27　试将动物体内细胞行为规则和人类社会人类行为控制作一比较。如果细胞行为与人类社会行为一样，一个动物会发生什么情况？控制细胞规则适用于人类社会吗？

问题 18-28　在一个高度机密的研究实验室内，Lawrence M. 博士受命培育一种像狗一般大小的大鼠，以派遣到敌人的防线后面。以你的观点，Lawrence M. 博士可以利用下列哪个策略来增加大鼠的体形？

A. 阻断所有的细胞凋亡。

B. 阻断 p53 的功能。

C. 过量产生生长因子、分裂素或生存因子。

D. 得到一份出租车驾驶员执照而改换职业。

试解释每个选择的可能后果。

问题 18-29　PDGF 是由一种原癌基因编码的蛋白质，它表达得不恰当会导致癌症。而在伤口处由血小板所分泌的 PDGF 却不能引发癌症，为什么？

问题 18-30　下列所描述的突变细胞中可能发生了什么？

A. 不能降解细胞周期蛋白。

B. 总是表达高水平的 p21。

C. 不能磷酸化 Rb。

问题 18-31　酗酒者以及肝癌患者的肝细胞都会发生过度增殖。试阐述其不同的诱发机制。

（周桢宁　孙啸宇　译）

19 性与遗传

19.1　性的优势
19.2　减数分裂及受精作用
19.3　孟德尔和遗传法则
19.4　遗传学作为实验工具

单个细胞进行DNA复制后分裂为两个细胞，这一基本的过程存在于所有的生命体中——不仅在多细胞生物，而且单个细胞如细菌和酵母也是如此，该过程使各个细胞能够将自身的遗传信息传递给下一代。

然而多细胞生物的增殖，如鱼、苍蝇、人或者植物却是一件非常复杂的事情。多细胞生物的增殖要经历一个非常精致的发育周期，在这个过程中，个体的所有的细胞、组织和器官都是由单个细胞产生的。而且这个初始的细胞并不是一个普通的细胞，它的来源非常特殊：对于大多数的动物和植物物种来说，它由两个分别来自于母亲和父亲的细胞融合而成。作为有性生殖中一个非常重要的事件，两个细胞的融合将两种基因组合并在一起，产生新个体的基因组。因此，有性生殖的生物体的遗传机制与单纯通过细胞分裂来传递遗传信息的生物体不同，而且要复杂得多。

在本章中，我们将会探索有性生殖的细胞生物学。首先，我们会探讨生物体为什么要有性别以及性别是如何产生的。父母双亲中带有遗传信息的特殊细胞的产生需要减数分裂这种特殊的细胞分裂过程，在本章中我们会阐述其发生的机制。然后，我们会讲述格里戈·孟德尔，这位沉迷于豌豆的奥地利神父是如何推演出这些基本的遗传法则的。最后，我们将向大家介绍科学家们如何通过探索有性生殖的遗传学来理解人类生物学、人类起源，以及引起人类疾病的分子机制。

19.1　性的优势

我们周围的大多数生物都是有性繁殖的。但是，也有许多种生物，尤其是那些肉眼不可见的生物是可以进行无性繁殖的。细菌和其他单细胞生物一般通过简单的细胞分裂来进行繁殖（图19-1）。许多植物也可以进行无性繁殖，它们通过形成多细胞的侧枝，然后与母本分离而形成新的独立的植株。即使在动物界，也有许多物种可以通过出芽来繁殖（图19-2），而有些蠕虫则可以被分裂为两部分，每一部分都可以再生出丢失掉的另一半。昆虫、蜥蜴，甚至是一些鸟类的雌性个体，可以通过产卵进行孤雌生殖——也就是说，不需要雄性精子或者受精过程就可以产生健康的个体，它们而这些子代个体也可以同样的方式进行孤雌生殖。

尽管这种**无性生殖**方式简单直接，但是这样产生的子代在遗传上与它们的亲代是完全相同的。而**有性生殖**则可以将两种基因组结合起来而产生出在遗传上与双亲不同的个体。这种生

殖模式显然具有更大的优势，因此绝大多数的植物和动物都采用这种生殖模式。

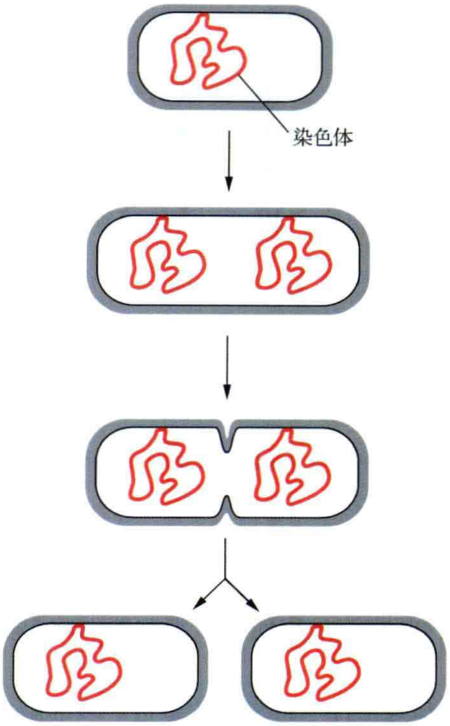


图 19-1 细菌通过简单的细胞分裂进行增殖。在理想状态下，一个细菌分裂为两个细菌需要20～25 min。

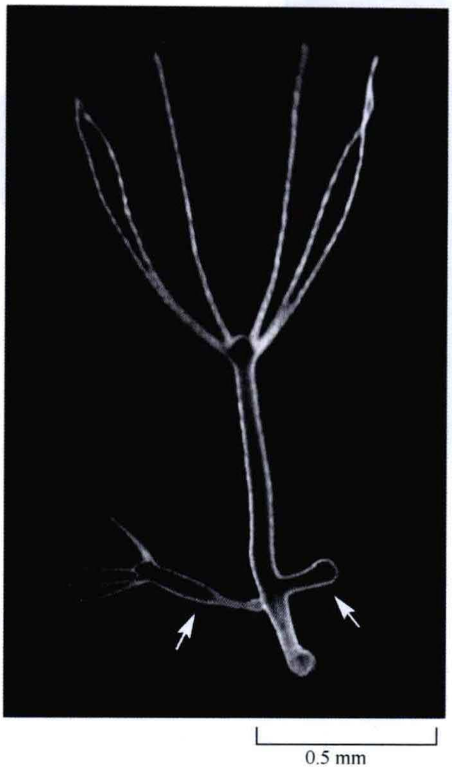


图 19-2 一个正在无性生殖的水螅。这种相对简单的多细胞动物通过形成在遗传上与亲代完全相同的芽体（箭头所示）来进行繁殖。最终，这些芽体会与亲代分离，独立生活。（蒙 Amata Hornbruch 提供）

19.1.1 有性生殖需要二倍体和单倍体两种细胞

进行有性繁殖的生物在遗传上是双倍体：每个细胞含有两套染色体——母源染色体组和父源染色体组，每一套分别来自于它的母亲和父亲。作为同一物种的成员，父、母本个体含有除**性染色体**外相同的染色体组。这种性染色体在一些生物中是特殊的染色体，将雄性及雌性区分开。因此，每个二倍体细胞，每个基因都含有两份拷贝，除了那些在性染色体上的基因可能会只有一份拷贝。

那么是什么使同一物种的不同个体千差万别呢？是因为基因的产生有多种多样的版本，也就是**等位基因**。一般来说，每个基因不同的等位基因存在于一个物种共同的基因库中。这也就意味着某个特定的个体含有的任一基因的两个拷贝都存在某种程度的不同，并且与其他个体所携带的拷贝也不同。正是因为有性生殖，使得每个新的个体代表的都是一套新的等位基因的组合。

与二倍体生物的体细胞不同的是，在有性繁殖中起核心作用的一类特殊细胞——**生殖细胞**，或者称为**配子**，是单倍体的；也就是说每个细胞只含有一套染色体。在动物中，典型的有两种配子，大的并且不游动的被称为卵子；而另一种小的可以游动的被称为精子（图 19-3）。这些单倍体生殖细胞都是二倍体细胞在进行减数分裂时产生的。在减数分裂过程中，两套染色体组中的各个染色体分离，重新组合并形成新的染色体组。两种不同的单倍体配子融合后就形成了

具有新的染色体组合的二倍体细胞(受精卵或者**合子**)(图 19-4)。合子然后发育为新个体,该个体含有两套与其父母双亲均不一样的染色体组。

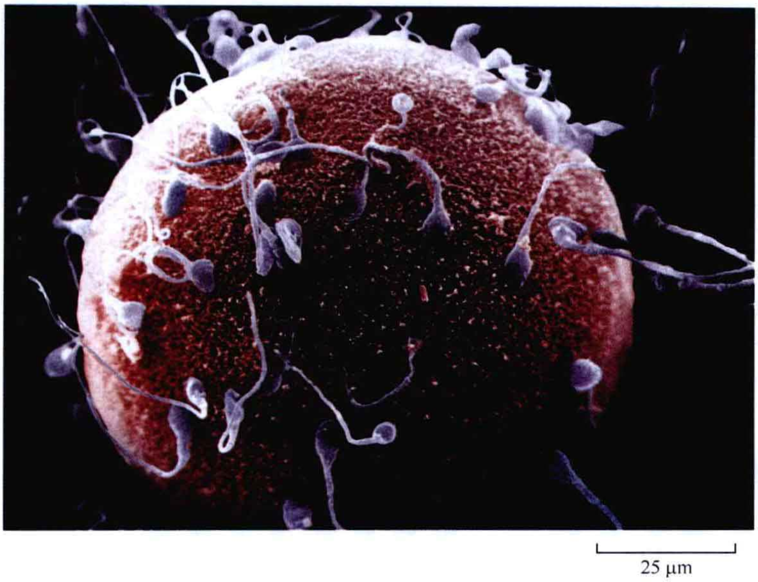


图 19-3 虽然精子和卵子的大小相差巨大,但它们对合子的遗传贡献是相同的。这种细胞大小的差异与我们关于细胞质不是遗传基础的知识是一致的(卵子含有大量的细胞质,而精子则几乎没有)。如果不是这样,那么雌性对后代的贡献将远远大于雄性。这里显示的是人类精子结合在卵子表面的扫描电镜图,虽然有许多精子结合在其表面,但只有一个可以使其受精。(蒙 Photo Researchers 公司 David M. Philips 提供)

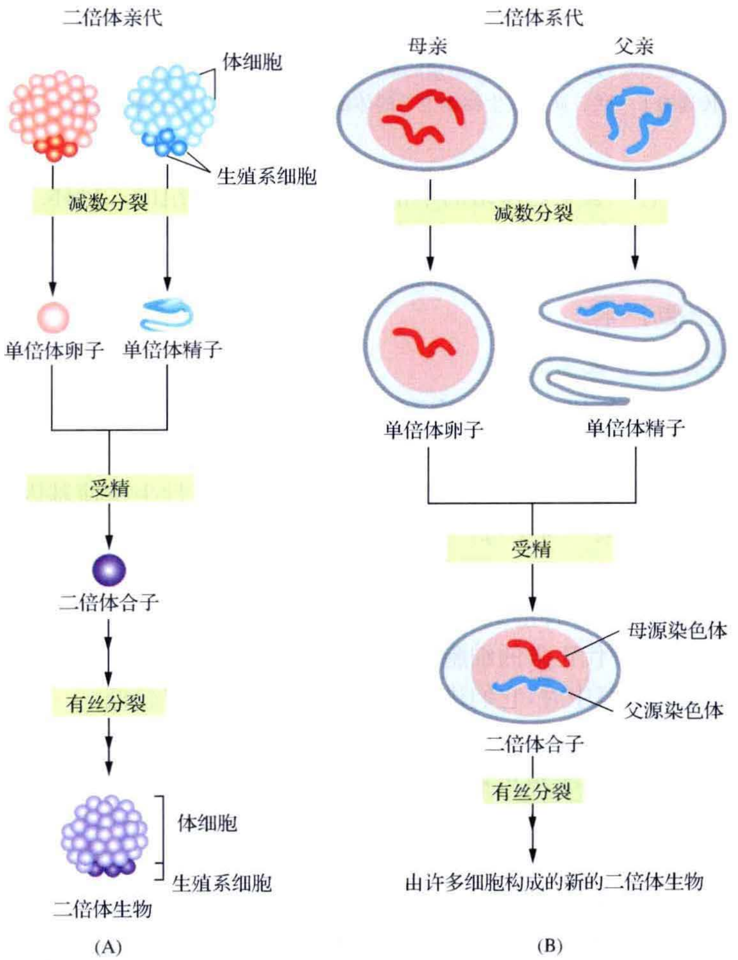


图 19-4 有性生殖需要单倍体及二倍体细胞。(A) 高等真核生物的细胞在二倍体时期增殖形成多细胞生物;由减数分裂产生的卵子和精子是单倍体配子。这些配子通过受精作用重新结合形成在遗传上与父母本不同的二倍体。在多细胞生物中,生殖系细胞(深色)是产生配子的前体细胞;体细胞(淡色)是身体中其余的细胞;(B) 从染色体角度描述的同一过程。为简单起见,每个配子中只有一条染色体,而且精子的大小被极大地放大了(实际大小参见图 19-3)。

对于几乎所有的多细胞动物,包括脊椎动物,实际上它们整个生活周期都处于二倍体状态,单倍体细胞的存在很短暂,而且完全不分裂,它们已经为行使配子的功能而变得高度特化。它们必须由其体内的二倍体的前体细胞不断产生出来。这些用来产生配子的前体细胞谱系,称为**生殖系**。而组成动物剩余部分的细胞——**体细胞**——则不会产生后代(图 19-5)。实际上,它们的存在,只是帮助生殖系细胞存活和增殖。

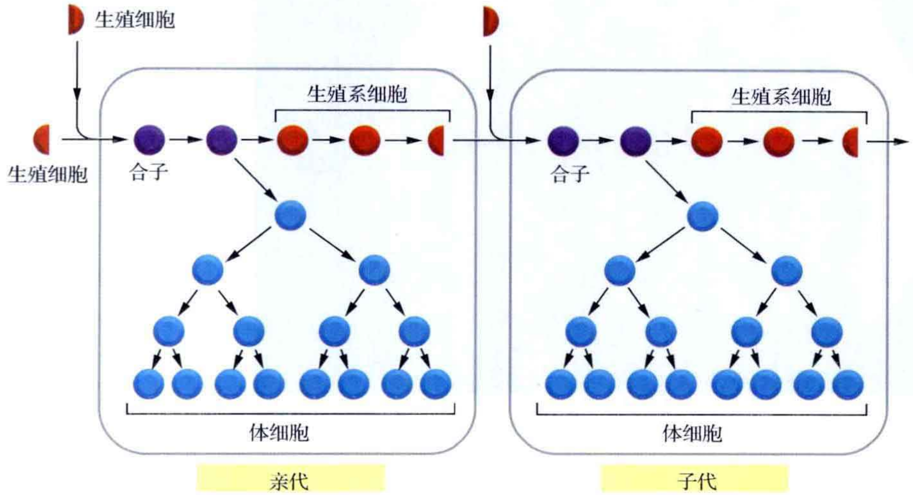


图 19-5 生殖系细胞和体细胞行使着本质上不同的功能。在有性生殖的动物中,生殖系细胞(红色)在其发育的早期就分化好了,这些细胞将遗传信息传递给下一代。而组成生物体主干的体细胞(蓝色)只为有性生殖提供支持,而不会产生后代。

因此,有性生殖的周期就包括了含有一套染色体组的单倍体和两套染色体组的二倍体二者之间的更替。有性生殖的特征是基因组的重新组合,这一过程是由两个单倍体细胞融合形成一个二倍体细胞来完成的。以二倍体、有丝分裂、单倍体和细胞融合这种周而复始的方式,旧的基因的组合不断被打破而新的组合又不断产生。

19.1.2 有性生殖使生物体具有竞争优势

有性生殖每一次的减数分裂所产生的等位基因的组合都是随机的过程,并无优劣可言。那么,为什么这种让生物尝试新的遗传组合的能力会让有性繁殖在进化上优于培育纯种的无性繁殖呢?这一问题一直在困扰着进化遗传学家,但其中的一个优势看来是通过有性生殖使基因重组可以帮助物种在复杂的环境中生存。如果一对父母产生了许多子代就会拥有相对多样的基因组合,那么至少一个个体含有生存必需的基因组合的概率就会增加。这就可以解释为什么即使是单细胞生物,如酵母,也会间歇性地进入一种形式简单的有性生殖中。典型地,在环境恶劣和饥饿状态下,它们会启动有性生殖方式替代正常的细胞分裂生殖。当那些具有遗传缺陷而不能进行有性生殖的酵母被放置在严酷的环境中时,它们进化和适应的能力就显得较低。

有性生殖在其他方面也有优势。在任何种群中,新的突变总是不断产生,从而产生新的等位基因,但是其中的许多突变是有害的。有性生殖可以加速这些有害的等位基因的消除,并且防止其在种群中的积聚。雌性通过选择与那些最优秀的雄性交配,使得在种群中保留好的基因组合并去除坏的基因组合的效率远远高于其不做选择。这一理论得到了成本效益分析的支持。根据该理论,有性生殖是具有优势的,因为雄性可以作为一个遗传的筛选器:成功交配的雄性个体,可以使并且仅使最好的基因组合传递下去,而那些失败的雄性个体则成为基因的“垃圾

罐”——将坏的等位基因从种群中去除掉。当然，进化的过程也要经过许许多多反复和曲折，因为有性生殖从一开始产生，尤其是在社会性的生物中，就必须承认有时雄性个体是以其他方式体现优势的。

不管有性生殖的优点在哪里，清楚的一点是，它在进化中是具有优势的。在接下来的一节中，我们会了解它的主要特征，首先将从产生生殖细胞的减数分裂开始。

19.2 减数分裂及受精作用

我们对有性生殖所涉及的周期事件的深入理解源于 1888 年的一个发现，当时 Theodor Boveri 观察到寄生的线虫的受精卵含有 4 条染色体，而其配子(精子和卵子)却只有 2 条。这一发现揭示了配子是**单倍体**的事实，它们只有一套染色体。而除此之外的身体其他的细胞，包括产生配子的细胞，都是**二倍体**，它们含有两套染色体，一套来自母本，一套来自父本。因此，精子和卵子必须经过特殊的细胞分裂而产生，使其染色体精确地减半。**减数分裂**(meiosis)这个词被创造出来用来描述这种细胞分裂，它来自于希腊语，意思是“减小”，或者“变少”。

从 Boveri 在线虫及其他物种的实验开始，人们开始清楚地认识到，这种当时还是功能未知并可进行简单染色的微观物质的行为方式竟然与遗传的方式相符，也就是说父母双方对子代个性的贡献是相等的，而不管精子和卵子的大小有多么大的差异(图 19-3)。这也促使人们开始意识到染色体含有遗传物质。因此，对有性生殖和减数分裂的研究在细胞生物学的历史上占有重要的地位。

在本节中，我们将会从现代的角度来描述基础细胞生物学，集中讲述染色体在细胞发生减数分裂时所跳起的精巧之舞。我们首先会概述一下减数分裂时如何将染色体分配到配子中，然后详细地描述在这个过程中，染色体是如何配对、重组并分离的，进而将母本和父本的基因进行重新组合。同时，我们也会讨论减数分裂失败时会发生什么。最后，我们简单地了解一下受精的过程，在这一过程中，配子结合在一起形成新的并且在遗传学上不同的个体。

19.2.1 二倍体细胞通过减数分裂产生单倍体细胞

当二倍体细胞进行普通的有丝分裂时，它们通过精确地复制两套染色体，使来自母本和父本的完整的这两套染色体传递到子代细胞中(重点在 18 章讨论)。减数分裂则不同，因为二倍体初始细胞中只有一套染色体最终会被分到每个配子中，其中部分来自母本，部分来自父本。然而，与表面上看上去相反的是，虽然最终的结果是染色体数目的减少，但是减数分裂最初一轮的 DNA 复制涵盖了所有的染色体。最终染色体数目的减少是因为一次 DNA 复制接着两次连续的细胞分裂。有人或许会猜想减数分裂可以通过跳过有丝分裂的 DNA 复制期(S 期)而达到减少染色体数目的目的。理论上，一次细胞分裂的确可以直接产生两个单倍体细胞，但是，因为某种未知的原因，事实却并非如此。

在许多物种中，减数分裂是一个非常拖沓冗长的过程，要比有丝分裂花费更多的时间：比如在人类的男性中，这个过程需要 24 天；而在女性中，则需要数十年。减数分裂起始于卵巢或睾丸的特殊的二倍体生殖系细胞。这些细胞每个都含有两份拷贝的染色体，一份遗传于个体的父亲(*父源染色体*)，另一份则来自它的母亲(*母源染色体*)。在减数分裂的第一步，这些二倍体细胞的染色体将会复制，像其他准备分裂的细胞一样，复制好的染色体仍然结合在一起，像一对连体的双胞胎。下一个时期则是减数分裂所特有的，每一个复制好的父源染色体要找到复制好的母源染色体并与其进行配对。这一特殊的配对过程可以保证在随后的细胞分裂中，同源染色体相互分离，并使最终的配子得到一套完整的单倍体染色体。

两次连续的细胞分裂，被称为第一次减数分裂和第二次减数分裂，可以使所产生的四个单倍体细胞每个都分到一套完整的染色体。因为同源染色体分配到每个细胞的过程是随机的，所以原始的母本和父本的染色体将会被重新洗牌后以不同的组合形成单倍体的配子。在受精过程中，两个配子将会结合产生一个遗传背景不同于其母本和父本的二倍体合子(图 19-4B)。这个合子通过重复的细胞分裂及细胞分化就可以发育成一个多细胞生物个体。

因此，减数分裂产生了遗传上不同的四个细胞，并且精确地含有原始的父母本细胞一半的染色体。而与之不同的是，有丝分裂将会产生两个遗传上完全相同的子代细胞。接下来，我们会更详细地讨论减数分裂周期中的分子事件，我们从同源染色体的配对开始，因为这是减数分裂这种特殊的细胞分裂核心的部分。

19.2.2 减数分裂涉及特殊的染色体配对过程

正如我们刚才提到的，在细胞分裂前，不管是减数分裂还是有丝分裂，它都要首先复制其所有的染色体。染色体复制完成的两份相同的拷贝，被称作**姐妹染色单体**。开始时，它们紧紧地并排连接在一起。然而在减数分裂和有丝分裂中，这些复制好的染色体的行为方式却是不同的。如 18 章中所述，在有丝分裂中，复制完毕的染色体在中期的赤道板上随机的排列；而随着分裂的进行，两个先前连接在一起的姐妹染色单体彼此分离成为单个的染色体。由胞质分裂产生的两个子代细胞各含有一份父源染色体和一份母源染色体的拷贝。于是，这两组染色体被完整的传递到遗传上相同的二倍体子代细胞中。

减数分裂的第一次细胞分裂的各个时期发生的事件的顺序与有丝分裂是相同的。在前期，复制的染色体浓缩在一起；而到了中期，它们在纺锤丝作用下排列在赤道板上；在分裂后期，它们分散到两极。详细的信息可以参考图版 18-1。但是减数分裂需要将染色体数目减半，因此就需要更多的细胞分裂装置来参与，而这也就成为减数分裂与有丝分裂第一个主要的区别。在减数分裂第一次细胞分裂期，复制完毕的父源和母源的染色体(包括性染色体)并排地配对在一起，然后排队到纺锤体上(图 19-6)。这种匹配的染色体组——称为**同源染色体**或者**同系物**——的配对，对于减数分裂是至关重要的，因为它能确保父源和母源的染色体在这第一次分裂时被分配到不同的子代细胞中。而对于每条染色体来说，将母源或者父源的同源染色体分配到这个或者那个子代细胞中的过程是随机的。就是以这种方式，在减数分裂的第一次分裂中，带有不

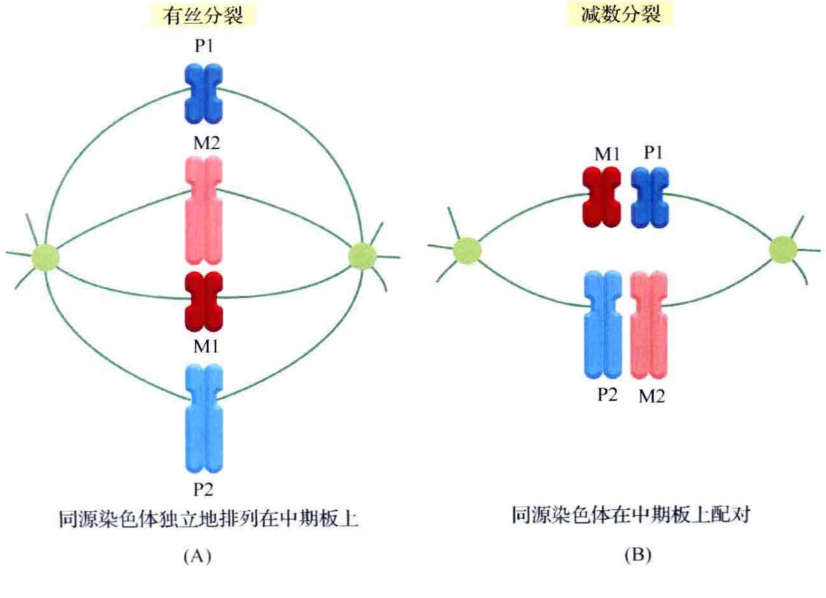


图 19-6 进行减数分裂时，同源染色体在排队到纺锤体之前进行配对。(A) 有丝分裂时，母源(M)和父源(P)染色体独立地排列在中期的赤道板上，而且各含有一对姐妹染色单体，并在随后的过程中分离。(B) 相反地，在减数分裂第一次分裂时，同源染色体在排队到中期赤道板上之前就已经配对完毕；在第一次细胞分裂后，每个子代细胞将随机获得母源或者父源的同系物。减数分裂和有丝分裂的共同点是，在列队之前，染色体都已经进行了复制。纺锤体以绿色表示。

同等位基因的原始的母源和父源染色体被重新洗牌后以不同的组合分配到每个子代细胞中。

同源染色体(包括性染色体)是如何相互识别的,目前仍然不十分清楚。在许多生物体中,**配对**的起始过程似乎是由散在于染色体上广泛存在的许多位点上的DNA序列相互匹配所介导的。成对的染色体配对所形成的结构称为二价染色体,其中包含有四条姐妹染色单体(图19-7)。在时间较长的减数分裂前期,二价染色体开始形成并一直维持,而在某些生物体中,这个过程可以持续数年。

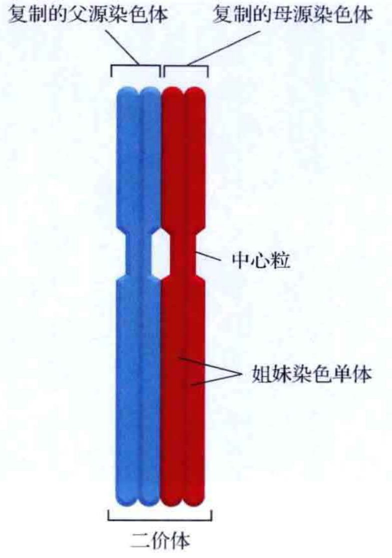


图19-7 减数分裂时成对的染色体共同形成一个二价染色体。这种含有四条姐妹染色单体的结构形成于减数分裂的前期。

19.2.3 同源染色体间可以进行交换

在上文中所描述的减数分裂第一次分裂,是非常简单化的,用以强调一个关键的特点。而几乎在所有的有性生殖的生物体中,父源和母源染色体的配对还经常伴随着**重组**,在这个过程中,两段相同或者相似的DNA序列进行了交换(图6-31)。在二倍体的生殖系细胞中,重组发生在第一次减数分裂的较长的前期。这种重组一般会导致母源和父源染色体上的一段同源序列的置换,而这一事件被称为**交换**(图6-30)。

减数分裂中的交换是一个由复杂的蛋白质机器催化的繁杂的过程,并且依赖于联会复合体的形成。当成对的同源染色体进行配对时,这种精巧的复合体将它们拉近并排列在一起,以利于非姐妹染色体单体间进行遗传重组。同时,它也可以将各个染色体的交换事件隔开。

配对的染色体中任意一条姐妹染色单体都可以与二价染色体中的另外一条染色体上的染色单体进行交换。当前期结束时,联会复合体也已经解离,同源染色体大部分的区域已经分开。但是此时每对同源染色体至少通过一个**染色体交叉点**连接在一起,对应于非姐妹染色单体间的交换(图19-8)(这一结构的名称源自希腊字母χ,类似于交叉的形状。很多二价染色体上不止一个交叉点,说明在同源染色体之间可以发生多次交换(图19-8B和C,图19-9)。在减数分裂第一次分裂时,每对染色体平均发生2～3次交换。

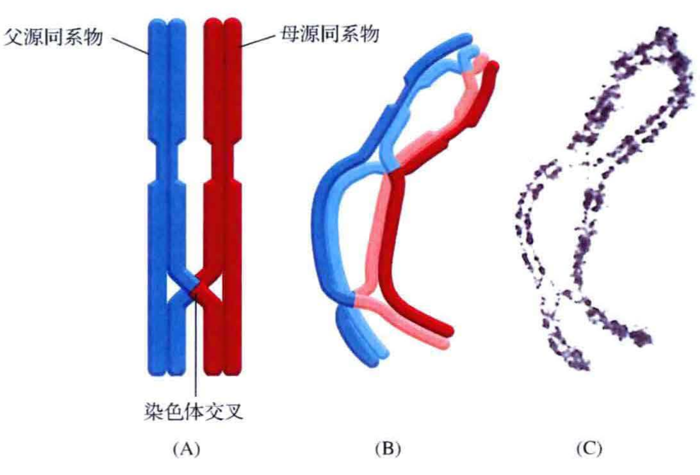


图19-8 交换事件在二价染色体的非姐妹染色体间产生交叉点。(A)在这一组配对的同源染色体中,前期只发生了一次交换,形成了一个交叉点;(B)在减数分裂稍后的阶段,同源染色体开始分离,而只有交换发生的位点连接在一起;(C)蚱蜢具有3个染色体交叉点的二价染色体照片。(C图蒙Bernard John惠赠)

减数分裂中的交换在有性生殖的物种中是产生遗传变异的一个重要来源。通过改变配子

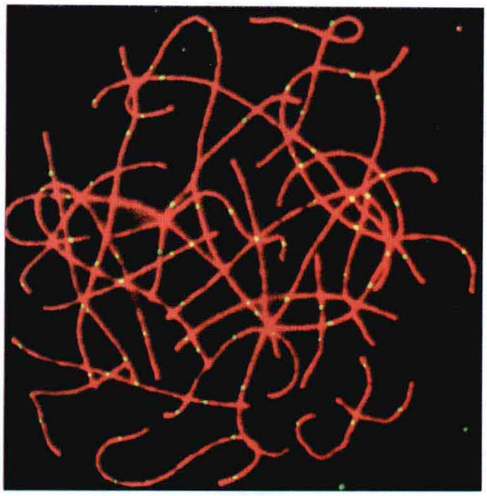


图 19-9 同源染色体间可以发生多个交换。图示为一张人类卵母细胞(前体卵子细胞)铺展的染色体的光学显微照片,此时母源和父源的 4 条姐妹染色单体仍然紧紧地连接在一起。每条红色长线就是一个含有 4 条 DNA 双螺旋的二价染色体。重组位点通过标记重组相关的关键蛋白质而显示为绿色。(经 Elsvier 出版集团同意引自 C. Tease et al., Am. *J. Hum. Genet.* 70:1469-1479, 2002)

中各条染色体不同的基因组成,交换催生了具有新的基因编排的个体。交换不仅推动了个体染色体上母源和父源基因的重新组合,而且在减数分裂中还起了第二个非常重要的作用:在第一次减数分裂的前期将同源染色体连接在一起,从而确保了二者在分裂时可以正确地彼此分离。这就是我们将在下一节进行讨论的内容。

19.2.4 染色体配对和重组保障同源染色体的分离

在大多数生物体中,重组是保证减数分裂时两个同源染色体正确地分配到子代细胞核中的前提。第一次减数分裂后期,直到纺锤体将同源染色体分开前,由交换事件产生的交叉点都一直将二者紧紧地连接在一起。尽管来自细胞两极的纺锤丝将同源染色体向相反的方向牵拉,这些交叉点仍然牢不可破(图 19-10A)。正是以这样的方式,交叉点协助二价染色体定位和稳定在中期的平面上。除了交叉点将同源染色体连接在一起之外,黏连蛋白也将姐妹染色单体的臂并列的黏在一起(图 19-8,图 18-15)。在第一次减数分裂末期开始时,这些黏连蛋白逐渐地降解而使姐妹染色体单体分开,从而促使刚刚重组完的同源染色体分离(图 19-10B)。

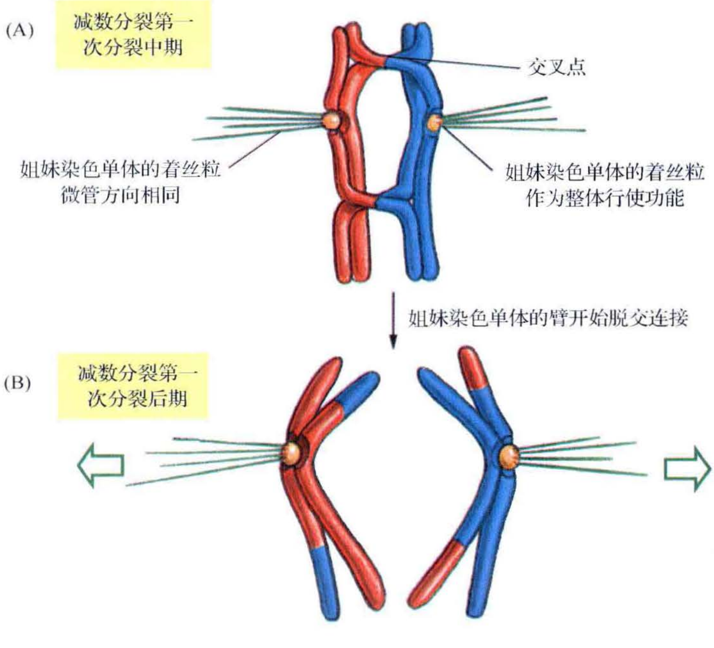


图 19-10 染色体交叉点保证减数分裂时染色体的正确分离。(A) 第一次减数分裂中期,交换产生的交叉点将同源染色体连接在一起。此时,黏连蛋白(图中未标识)将姐妹染色单体并排的黏在一起。在第一次减数分裂期,姐妹染色体单体的着丝点作为一个功能单位,连接在它上面的微管均指向单一的方向;(B) 在第一次减数分裂末期,黏连着姐妹染色单体臂的黏连蛋白被降解了,但是着丝粒上的黏连蛋白仍然存在并继续把姐妹染色单体连接在一起。这样就使刚完成重组的同源染色体在纺锤丝的牵引下被拉向相反的两极时,其中的姐妹染色单体仍然在一起。而在有丝分裂的末期,染色体的臂和着丝粒已经分开。

19.2.5 第二次减数分裂产生单倍体子代细胞

第一次减数分裂并不产生单倍体的细胞。为完成这个目标，每个细胞需要进行第二轮的减数分裂即第二次减数分裂，而此时 DNA 并不复制，也没有明显的分裂间期；纺锤丝开始形成并将染色体排列在赤道板上，姐妹染色体相互分离进而形成单倍体的子代细胞。在第二次减数分裂期，像普通的有丝分裂一样，连接在每个姐妹染色单体着丝粒上的着丝粒微管指向相反的方向。这样的构造使各个染色单体在第二次减数分裂末期被分配到不同的子代细胞中（图 19-11）。此时连接着姐妹染色单体着丝粒的是减数分裂特异的黏连蛋白，当其突然间降解后，两条染色单体就分开了。

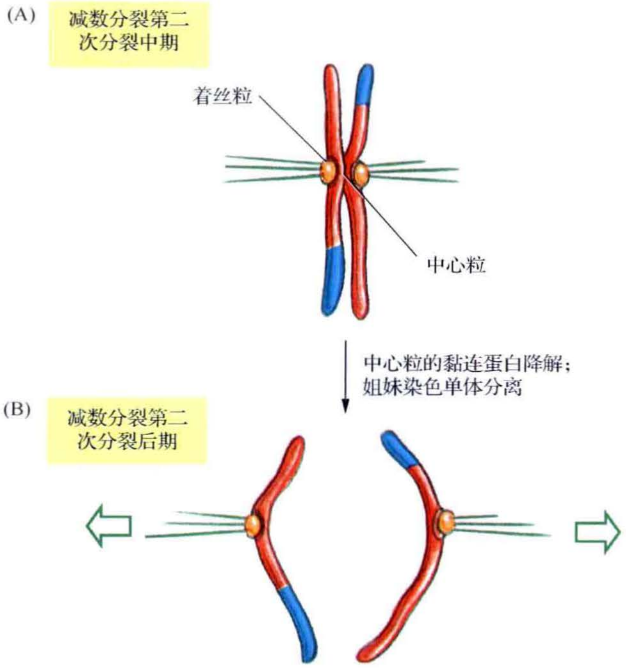


图 19-11 同有丝分裂一样，在第二次减数分裂期，每个姐妹染色体单体的着丝粒独立的发挥功能，从而可以使两个姐妹单体被拉向相对的两极。(A) 在第二次减数分裂中期，姐妹染色体单体的着丝粒指向相反的方向；(B) 着丝粒上将姐妹染色单体连在一起的黏连蛋白已经被降解，进而使着丝粒上的微管将染色单体拉向相反的两极。

总之，减数分裂包括一次 DNA 复制和两次细胞分裂，从而使进入减数分裂的二倍体细胞产生四个不完全相同的单倍体细胞（参考视频 19.1）。而相应地，一次普通的有丝分裂周期，一个二倍体细胞将产生两个相同的二倍体细胞。二者的不同在图 19-12 中进行了比较。

19.2.6 单倍体细胞的遗传信息进行了重组

由同一个合子发育来的同卵双胞胎，在遗传上是完全相同的；而其他的任何两个兄弟姐妹间的遗传信息都是不同的。这是因为即使在受精发生前，减数分裂已经产生了两类随机重组的遗传信息。

首先，如我们已经了解的，在减数分裂时，父源和母源的染色体被重新洗牌后进入了不同的配子。虽然每个配子得到且只得到两份染色体拷贝中的一份，但二选一的过程却是随机的。因此，每个配子得到了来自母本的一部分染色体，而其余的则来自父本（图 19-3A）。这种重组完全取决于每个二价染色体在第一次减数分裂时排列在纺锤丝上的位置。而母源或父源的染色体是被来自这一极还是另一极的纺锤丝捕获，则与微管连接到其着丝粒上时二价染色体的朝向相关（图 19-10）。因为每个二价染色体在被捕获的瞬间的方向是完全随机的，所以母源和父源染色体的重组也是随机的。

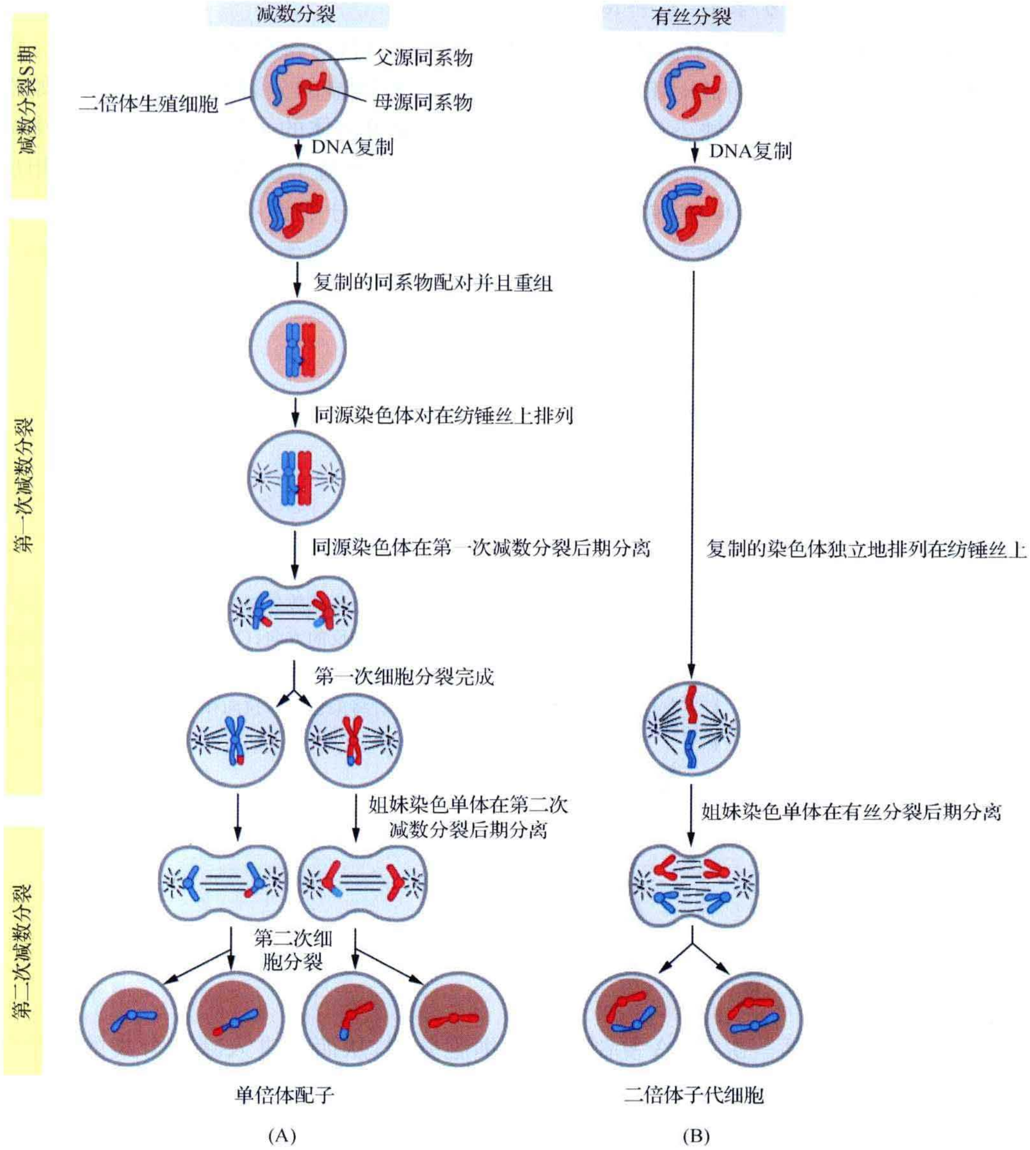


图 19-12　减数分裂产生四个不完全相同的单倍体细胞，而有丝分裂产生两个相同的二倍体细胞。如图 19-4B 所示，图中只显示一对同源染色体。减数分裂中，DNA 复制后需要两次细胞分裂产生单倍体配子。因此每个进入减数分裂的细胞产生 4 个单倍体细胞，而进入有丝分裂的二倍体细胞只产生 2 个二倍体细胞。虽然完成有丝分裂和第二次减数分裂只需要数小时，但第一次减数分裂可以持续数天、数月甚至数年，因为前期需要较长的时间。

仅仅因为这种方式的重组，一个个体原则上可以产生 2^n 个遗传上不同的配子，n 代表单倍体细胞的染色体数目。例如，理论上只是因为减数分裂时发生的同源染色体的随机重排，每个人可以产生 $2^{23}=8.4\times10^6$ 个不同的配子。然而，实际上每人产生的配子的种类远远大于 2^{23}。这是因为减数分裂时发生的交换，为遗传信息重组的随机化提供了第二种来源。减数分裂时，人的每对染色体平均发生 2～3 次交换。这就可以使原本在不同染色体上的母源和父源的基因定位到同一条染色体上，如图 19-13B 所示。因为交换几乎发生在染色体上随机的位点上，所以每次减数分裂将会产生四组全新的染色体。

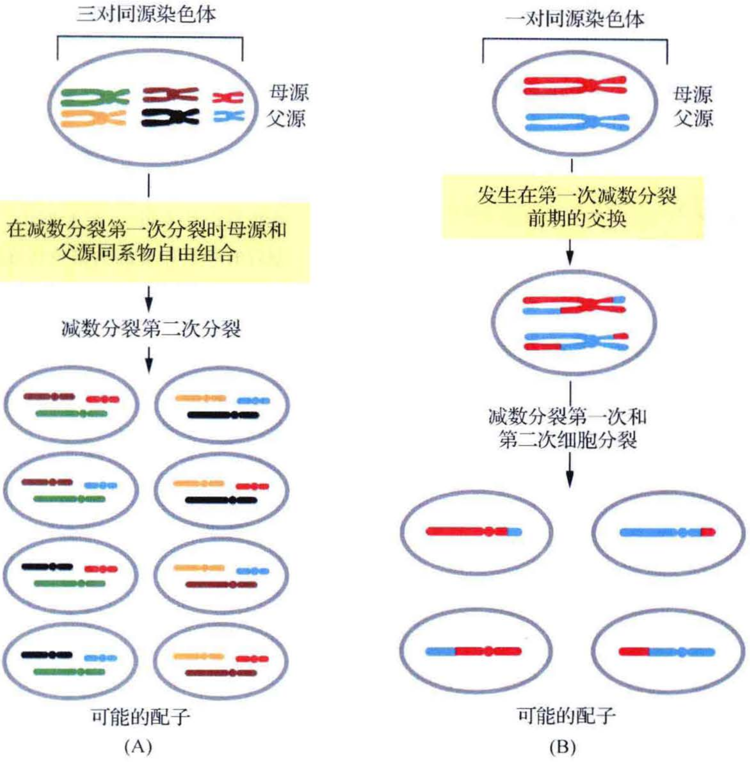


图 19-13 减数分裂时两种产生新的染色体组合的重组方式。(A) 减数分裂时，对于有 n 条染色体的生物体来说，母源和父源染色体独立的分配事件将会产生 2^n 个不同的单倍体配子。这里 $n=3$，因此就会有 2^3，也就是 8 种不同的配子。为简单起见，染色体交换未做标识。(B)在第一次减数分裂前期，交换使同源染色体上的片段互换从而将个体染色体上的基因进行重组。为简单起见，只显示一对同源染色体。每次减数分裂都会发生独立地分配和交换。

减数分裂期染色体的重组，以及由交换产生的基因重排，使单个个体产生的配子的遗传变异具有了无限种的可能性。由于每个人是由分别来自母亲和来自父亲的两个配子融合而成，所以可以想象我们周围的人们变异的丰富程度，即使是在单个家庭内，都一点不让人惊讶。

19.2.7 减数分裂并非完美无缺

减数分裂时发生的染色体的分配是细胞功劳簿上浓重的一笔：在人类中，每次减数分裂需要初始细胞清楚地记录 92 条染色体(23 对，每条都加倍)，然后将完整的一组染色体分配到每个配子中。不无意外的是，在这个精巧的染色体分配过程中确实会发生一些错误。

偶尔地，同源染色体不能正确地分离，这一现象称为**染色体不分离**。结果是，产生的单倍体细胞，其中一些缺少某条染色体，而另一些会多一条染色体。而受精完成后，这些配子会产生非正常的胚胎，其中大部分致死。当然，也有一些可以存活。例如，**唐氏综合征**，一种导致人类精神发育迟滞和典型的生理畸形的疾病，是因为 21 号染色体多了一份拷贝。这种错误是因为减数分裂时 21 号染色体对不能正常分离，所以产生的配子就含有两份拷贝而不是一份(图 19-14)。当这种不正常的配子受精时与正常的配子结合后，所产生的胚胎就会含有三份拷贝的 21 号染色体而不是两份。这种染色体的不平衡会使 21 号染色体上的基因编码的蛋白剂量增加，从而干扰胚胎的正常发育。

人类配子中染色体发生不正常分离的概率是相当高的，尤其是在女性中：减数分裂时卵母细胞发生染色体不分离的频率为 10%，由此产生的卵子就会含有非正常数目的染色体(称为**非整倍性**)。非整倍性在人类精子中发生的频率则较低，这可能与精子发生时经历了比卵子更严格的质控有关。如果男性中减数分裂的细胞发生了错误，一种细胞周期检测点机制就会被激活，终止减数分裂而使细胞发生凋亡。无论这种不分离是发生在精子还是卵子中，都可以被认

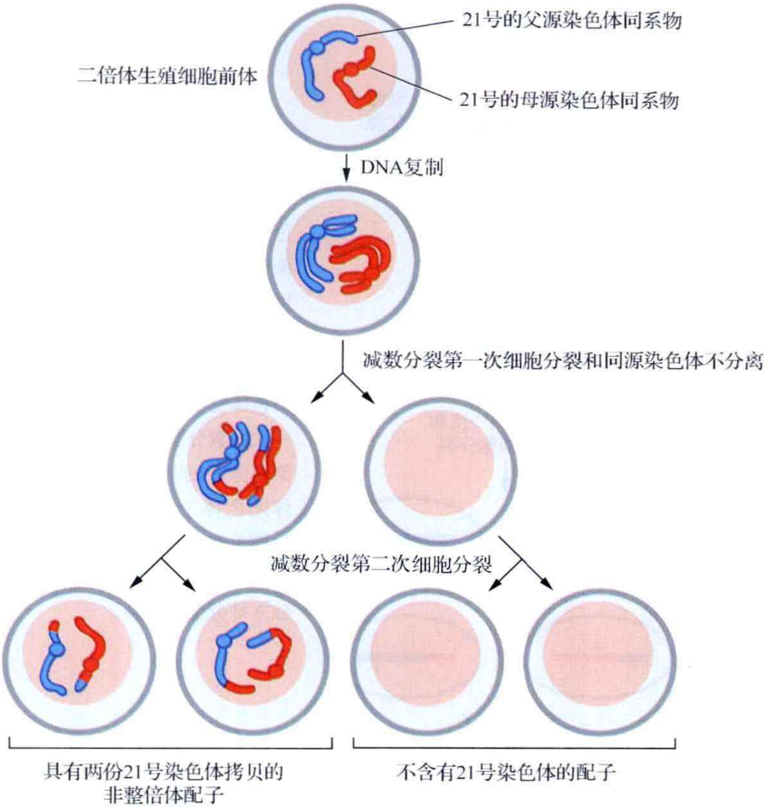


图 19-14 减数分裂染色体分离时的误差会导致配子中含有非正常数目的染色体。 在本例中，复制后的母源和父源的染色体在减数分裂第一次分裂时不能正常地分离。结果，其中两个配子没有这条染色体，而另外两个配子则有两份拷贝。含有不正常数目染色体的配子称为非整倍体配子。如果它们参与了受精的过程，所产生的合子的染色体数目也不正常。如果含有两份 21 号染色体拷贝的配子与一个正常的配子结合，所生出的孩子则会有唐氏综合征。

为是导致人类早期妊娠中高发流产(自发流产)的一个主要原因。

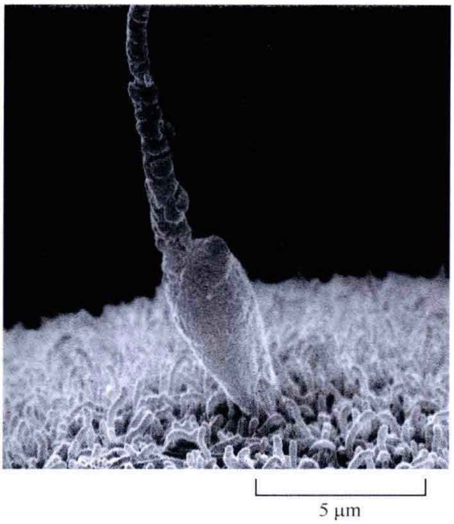


图 19-15 一个精子结合到一个卵子的细胞膜上。 这里是一张人类精子正在接触仓鼠卵子细胞膜的扫描电镜照片。卵子表面的透明带已经被剥离，暴露出了覆盖有手指样微绒毛的细胞膜。在治疗不育症的诊所里，这种去包被的仓鼠卵子被用来评价人类的精子能否穿过卵子。这样的检测中产生的合子是不能发育的。(蒙 David M. Phillips 提供图片)

19.2.8 受精重新建成新的二倍体基因组

在前面我们已经了解了减数分裂时染色体是如何分离的，现在我们简单的讨论一下在**受精**过程中，它们又是如何重新组合在一起，形成新的具有整套染色体的合子。

在男性每次性交中射出的 3 亿个精子中，只有约 200 个能够到达输卵管中受精的位置。有证据表明排出的卵子周围的细胞可以释放化学信号吸引精子向卵子泳动，但这种化学引诱分子的本质还不清楚。一旦找到卵子，精子必须冲破卵子周围的一层保护细胞，结合后穿过卵子的外被——透明带。最后，精子还必需结合并与透明带下的卵子细胞膜融合(图 19-15)。尽管受精是可以通过这种正常的精卵融合来完成，但也可以人工地将精子直接注射到卵子的胞质中来完成，有时治疗不育症的诊所会在精卵结合有问题时采用这样的治疗策略。

虽然可能有很多精子结合到同一个卵子中，

但是通常只有一个精子与卵子细胞膜融合而将其 DNA 释放到卵子的胞质中。这一过程的控制是尤其重要的，因为它确保了一个受精卵含有且仅含有两套染色体。有多种机制可以防止多个精子进入卵子。其中的一个机制表明，第一个成功的精子会刺激卵子细胞质中释放出大量 Ca^{2+}，然后这些 Ca^{2+} 会激活一些酶的分泌而使透明带"变硬"，从而阻止其他的精子再穿过透明带，这就确保了在这场受精的赛跑中只有一个冠军。在视频 16.4 和 19.2 中，可以观看受精诱导的 Ca^{2+} 的释放。

一旦受精完成，卵子就成为**合子**。但是，直到两个单倍体的细胞核(称为*原核*)彼此靠近然后形成一个二倍体的细胞核，受精的过程才结束。受精的完成标志着生物学中最重要的现象之一：胚胎发生过程的开始，之后合子将会分裂产生大量的二倍体细胞并发育成一个新的个体。

19.3 孟德尔和遗传法则

在无性生殖的生物体中，亲代的遗传物质忠实地传递给子代，因而后代们在遗传上与单个亲代完全相同。在孟德尔开始他的豌豆研究之前，一些生物学家猜想人类的遗传方式是否也是如此(图 19-16)。

尽管孩子们长得很像他们的父母，但他们不是母亲或父亲的复印件。在有性生殖的生物中，后代总是倾向于包含父母性状的组合。这些事实促进了早期的遗传学家(研究遗传学的科学家)不遗余力地去揭示遗传法则。为了理解遗传中潜在的规则，我们必须要能够追踪从亲代传递(或者不传递)给子代的某些特殊的性状。而且这些性状必须要有变异。如果每对蓝眼睛的父母只生蓝眼睛的孩子，代代相同，那就不可能在研究这些家庭的基础上，推断出"蓝眼睛是遗传的"这一结论之外的东西。

正是因为我们上节讲述的减数分裂，性别打破了已有的遗传信息的集合，将等位基因重新组合，最终产生了具有不同性状的个体。因此研究有性生殖物种的性状传递，毫无意外地为揭开遗传学的机制提供了真知灼见。

图 19-16　一种被证伪的遗传理论曾认为遗传性状都是从父亲那里传递下来的。为了支持这种特别的单亲遗传方式，一些早期的显微镜学家幻想着他们能够在每个精子的头部检测到一个抱头屈膝的完全成型的微小的人。

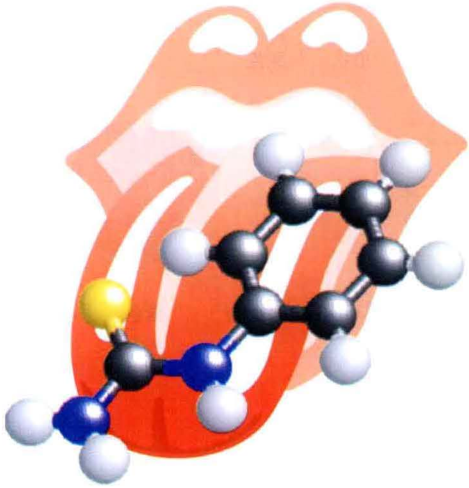


图 19-17　有些人能尝出它，有些人则不能。品尝苯硫脲(PTC)这种化学物质味道的能力是由单基因决定的。尽管遗传学家在 20 世纪 30 年代就发现这种能力是符合孟德尔遗传的，但是直到 2003 年，研究人员才确定了决定这一性状的基因，它是一种编码苦味感觉受体的基因。不能尝出这种味道的人所产生出的 PTC 受体蛋白，由于其中的几个氨基酸被替换而使其活性降低。

像其他物种一样，人类中也有许多单一性状可以在代与代之间进行跟踪。例如，一个人的耳垂是附着的还是悬垂的，或者一个人是否可以感觉某种气味或香味(图 19-17)。但是因为我们的家庭成员太少，而且人类发育太缓慢以至于需要 40 多年才能得到两代人来分析，所以人类不是研究遗传学的最佳实验材料。

相反地，遗传法则是在那些容易繁殖且子代数目大的物种中被揭示的。遗传学之父格里戈·孟德尔，选择豌豆来研究遗传法则。而相同的实验也可以在果蝇、蠕虫、狗、猫或者具有令人感兴趣的性状的任何植物、动物中完成。现在我们知道同样的遗传法则可以适用于全部的有性生殖的生物，从微小的酵母到豌豆，甚至到人。

在这一节中，我们将会讲解有性生殖生物中基因传递的规律。我们会看到减数分裂中染色体的行为——它们分离进入配子，然后随机的结合形成遗传上独一无二的后代——是如何解释实验中获得的遗传法则。但在开始之前，我们首先了解一下，19 世纪的孟德尔是如何在修道院的花园里通过繁育豌豆发现了这些法则。

19.3.1　孟德尔选择以分离方式遗传的性状来研究

当设计一个实验来解决一个科学问题时，选择合适的生物体是十分重要的。孟德尔选择在豌豆中进行他的研究。豌豆非常容易种植并且在修道院这样的小空间里也可以得到大量的植株。还有，孟德尔能够控制哪两株植株间可交配。因为每朵花都是雌雄同株，正常情况下均为自花授粉。但孟德尔发现他可以去除未成熟的雄花，而采用其他植株的花粉来对其进行杂交。这样孟德尔就可以确定他所研究的每株豌豆的谱系。

而对孟德尔的研究同样重要的一个因素是，豌豆这种植物具有很多的变种。例如，花的颜色有的是紫色，有的则是白色；有的产生光滑种皮的种子，有的则是皱缩的种皮。孟德尔选择了几组易观察、差异大的性状，更重要的是这些性状以分离的方式遗传，如花的颜色和种子的形状(图 19-18)。换句话说，豌豆或者开紫色的花或者开白色的花，而不会开介于两种颜色之间的花。

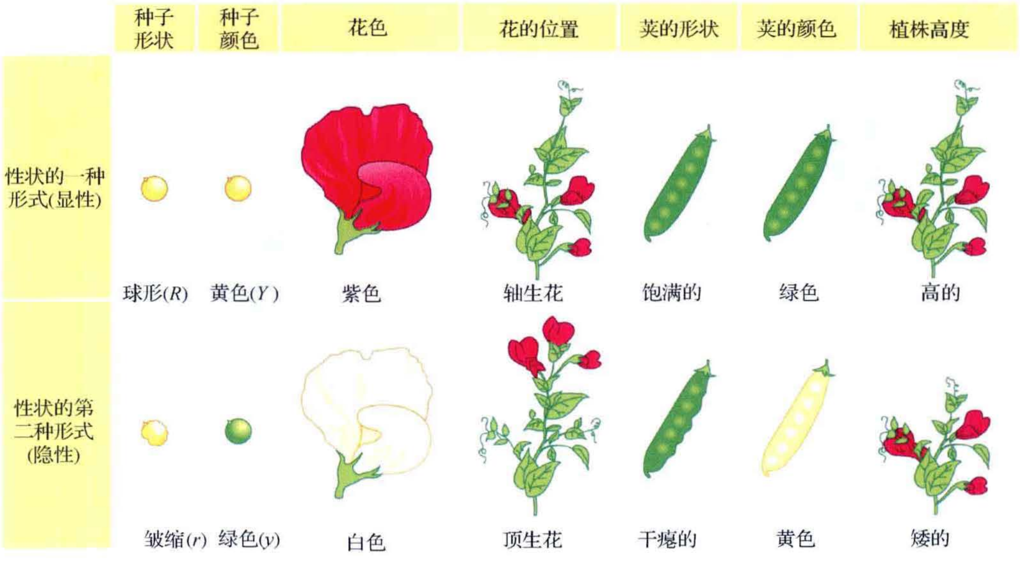


图 19-18　孟德尔研究了 7 种可以独立遗传的不同性状。植株的每一种性状，都是非此即彼的。或者说，一株豌豆或者产生黄色的豆荚或者产生绿色的豆荚，而不会产生不黄不绿的豆荚。正如我们将要看到的，一种性状是显性的，而另一种则是隐性的。

19.3.2 孟德尔否认了其他的遗传理论

孟德尔的繁育实验是直截了当的。他最初时采用的是遗传上的纯种植株，这些纯种植株通过自花授粉繁殖时，所产生的子代也是纯种。譬如，如果他研究种子的颜色，他会采用亲代是黄色种子而子代也同样是黄色种子，或者亲代是绿色种子而子代也同样是绿色种子的植株。

孟德尔采用的是每次研究一种性状的独特的方式。而他的前辈则常常聚焦在许多性状均有变化的整个的生物体，结果往往是陷于子代复杂的外表而无法与其亲代进行比较。在孟德尔一个典型的实验中，他会选择两个纯种的品系，杂交后记录所选择的性状在下一代的传递方式。例如，将产生黄色种子的品系与产生绿色种子的品系进行杂交，孟德尔发现所产生的杂交子代，称为第一代或 F_1 代，都是黄色种子(图 19-19)。同样的结果在他选择的所有性状中都得到了验证：F_1 代杂交品系均只与它们亲代的其中一方相同。

从这些豌豆种子的实验中，孟德尔总结出种子的颜色在子代中不是混合遗传的，因为如果是的话，F_1 代的豌豆都应该是黄绿色的。尽管在表面上，这样的结果似乎支持单亲遗传的理论，也就是子代的外表与亲代的一方相同。但假使孟德尔仅仅停留在观察 F_1 代上，他揭示的遗传规律就可能会是错误的。幸运的是，他又将他的杂交实验前进了一步，将 F_1 品系相互杂交，或者让它们自交，然后分析结果。

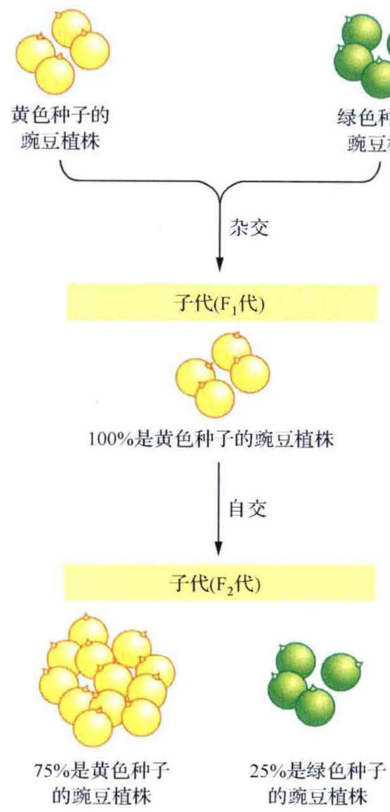


图 19-19 一组简单的实验揭示了遗传的分离定律。产生绿色种子的纯种品系与产生黄色种子的纯种品系杂交总是产生黄色的种子。但如图所示，当这些子代(F_1 代)相互杂交或者自交时，将会有 25%的子代为绿色种子。

19.3.3 孟德尔第一次揭示了遗传分离定律

孟德尔的所设计的关于 F_1 代杂交的实验被用来解决一个明显的问题：到底发生了什么事情使许多性状在 F_1 代中消失了，如豌豆的绿色性状(图 19-19)？难道是产绿色种子的植株在遗传上没有对其子代作贡献？为了弄清楚这个问题，孟德尔让 F_1 代植株进行自交。如果绿色种子的性状消失了，那么 F_1 代植株的下一代，也就是 F_2 代，则只产生黄色种子。孟德尔采取了大样本实验并对结果进行了精确地计数，他发现那些“消失的性状”又回来了：尽管 F_2 代中 3/4 为黄色种子，但是剩余的 1/4 却是绿色种子(图 19-19)。

这一结果无疑宣判了混合遗传理论的死刑。因为混合遗传无论如何不能解释两株产黄色种子的豌豆杂交会产生具有绿色种子的植株。但是这些数据也引发了孟德尔对其中原因的思考。虽然绿色豌豆的性状在 F_1 代暂时消失了，但却在 F_2 代中重新出现了。这就意味着至少一部分 F_1 代的植株必然具有绿色种子这一性状的因素，只是被隐藏了。而在其所研究的其他 6 种性状中，孟德尔也发现了同样的现象。

为了解释这些现象，孟德尔假设这些性状的传递是被某些可遗传的因素(我们现在称为基

因)所控制的,而这些因素就像离散的颗粒一样保持分离而不能够被混合。并且,他推断正是这些不同版本的基因造就了不同的遗传性状。例如,控制种子颜色的基因,有两种"风格",一种导致产黄色种子,另一种则产绿色种子。这种不同版本的基因,我们现在把它称为**等位基因**,而个体所有的等位基因的集合,也就是遗传组成,被称为**基因型**。

孟德尔推论对应于每种特征,植株必需遗传基因的两个拷贝,也就是等位基因,其中一个来自母本,另一个来自父本。他认为纯种的亲本,每个具有一对相同的等位基因,产黄色豌豆的植株具有两个决定黄色种子的等位基因,产绿色豌豆的植株则具有两个决定绿色种子的等位基因。一个个体如果含有两个相同的等位基因就被称为某个性状是**纯合的**。另外,F_1 代杂交的植株,含有两个不同的等位基因,一个是决定黄色种子,另一个则是决定绿色的。所以这些植株在这种性状中是**杂合**的。

植物的外表或者**表型**,取决于它所获得的等位基因的版本。为了解释在 F_1 代其中一种表型的消失,孟德尔认为任意一对等位基因其中一个是显性的,另一个是隐性的或者隐藏的。显性基因不管什么时候出现,都会决定植物的表型。以植物的种皮颜色为例,决定黄色种子的等位基因是显性的,而决定绿色的则是隐性的。

杂合现象和显隐性的一个重要结果就是,不是所有的等位基因都可以通过个体的表型而被检测出来。人类约含有 25 000 个基因,对于具有如此庞大数目的基因,我们每个人都是杂合子。因此,我们每个人都携带着相当多的没有在我们身上表现出来的遗传信息,而这些信息可能会在后代中显现出来。

19.3.4 每个配子对应于每一种性状含有一个等位基因

孟德尔的理论,即对于每个基因,每个个体遗传了一份来自母亲的拷贝和一份来自父亲的拷贝,产生了一个逻辑问题。如果一个个体每个基因都含有两份拷贝,那么它是如何将其中的一份遗传给它的子代的呢?并且这些基因的集合在随后的子代中又是如何重新组合在一起的呢?

孟德尔认为在精子和卵子形成时,亲本中的每个基因的两份拷贝就分开了,这就使每个配子每种性状只得到了其中的一个等位基因。因此,每个卵子(卵细胞)和每个精子(花粉粒)只得到一个决定种子颜色(黄色或者绿色)的等位基因,一个决定种子形状(光滑或者皱缩)等位基因,一个决定花的颜色(紫色或者白色)的等位基因,等等。受精的过程中,带有一个等位基因的精子与带有一个等位基因的卵子结合从而使受精卵或者合子恢复为二倍体,也使决定每个性状的基因恢复为两份拷贝。受精时哪种类型的精子与哪种类型的卵子结合完全是随机的事情。

孟德尔关于遗传原理的第一个法则——**分离定律**,阐释为决定每个性状的两个等位基因(来自父本或者母本)在配子形成时分离,而在受精时随机结合。根据分离定律,产黄色种子的 F_1 代杂合植株,会产生两种配子:一半是决定黄色种子的等位基因,另一半则是决定绿色种子的等位基因。当杂合植株自花授粉时,这两种配子随机地结合在一起。因此,一个带有绿色种子等位基因的卵细胞被带有绿色种子等位基因和黄色种子等位基因的花粉受精的概率是相同的。而带有黄色等位基因的卵细胞也是如此。因此在 F_2 子代中会产生四种不同等位基因的组合(图 19-20)。F_2 代植株中的 1/4 得到两份决定绿色种子的等位基因,显然它们是产绿色种子的;还有 1/4 得到两份决定黄色种子的等位基因,将会产黄色种子;剩下的 1/2 的两个等位基因中一个决定绿色种子,一个决定黄色种子。而因为黄色的等位基因是显性的,所以这些植株同那些杂合的 F_1 代一样产黄色的种子。也就是说,F_2 代中有 3/4 的植株产黄色种子,1/4 的产绿色种子。因此,孟德尔的分离定律就解释了在 F_2 中观察到的 3∶1 的比值。

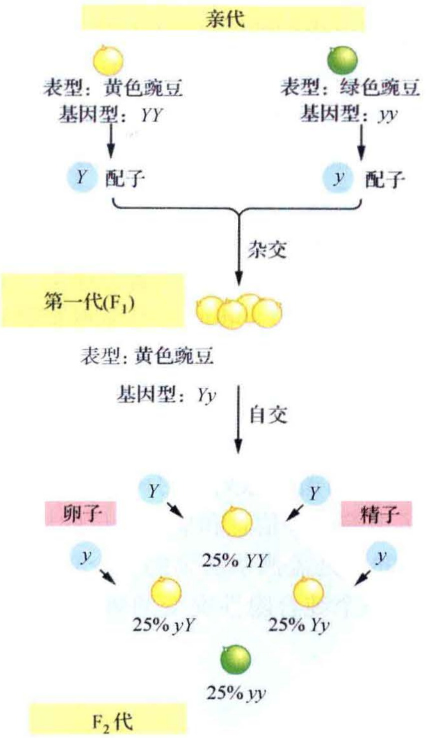


图 19-20 亲代植株产生的配子，每个只含有决定同一性状的一个等位基因；子代的表型取决于它所得到的等位基因的组合。在这里我们看到的是图 19-19 所种植的豌豆的基因型和表型。纯种的黄色豌豆只产生携带 Y 的配子，纯种的绿色豌豆只产生携带 y 的配子。它们产黄色种子的子代的基因型为 Yy。而这些杂合子的子代，75%为黄色种子，25%为绿色种子。底部灰色的框子里是庞纳特方格，它是孟德尔追随者中的一个英国数学家发明的，这样我们就可以方便地跟踪配子形成时等位基因的分离和预测受精时等位基因的组合。依据孟德尔发明的系统，大写字母代表显性基因，小写字母代表隐性基因。

19.3.5 孟德尔的分离定律适用于所有的有性生殖生物

孟德尔的分离定律解释了他所在豌豆实验中所有的数据。而他也可以将他的发现推及到玉米和大豆。但他的遗传法则却不仅仅适用于植物，孟德尔关于基因的概念和分离法则适用于所有的有性生殖生物，同样也包括人类。

让我们来研究一下能够反映人类的单一基因行为的表型。白化病，主要是Ⅱ型白化病，是一种罕见的在多种动物中都以隐性方式遗传的疾病，而在人类中也是如此。或者说，像豌豆中产绿色种子的植株一样，白化体是某一特定隐性基因(a)的纯合子。它们的基因型是 aa。显性基因 A 编码一种与黑色素产生有关的酶，而这种色素与毛发、皮肤以及眼睛的视网膜所呈现出的大部分的棕色和黑色有关。而隐性基因 a 所编码产生的酶则活性较低甚至完全无活性。没有这种酶，白化体的毛发、皮肤就会发白，而瞳孔也变成粉红色，这是由于缺少了着色而将视网膜血管中的血红蛋白的颜色显现出来

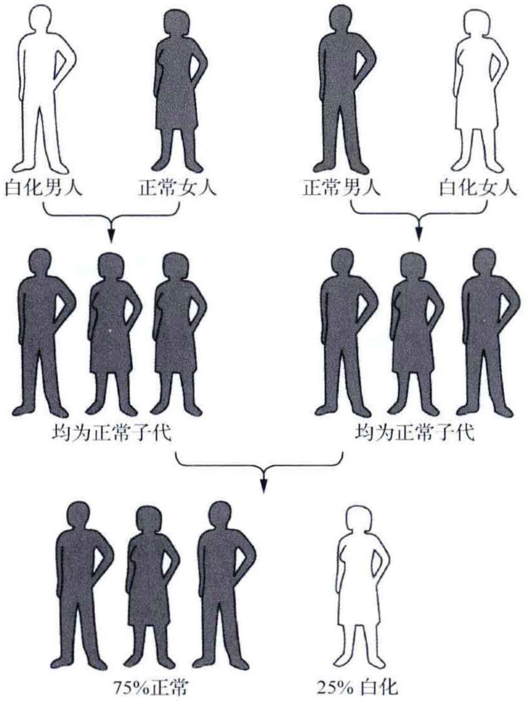


图 19-21 孟德尔的分离法则适用于所有有性生殖的生物。这里所表示的是Ⅱ型白化病在家族中传递的模式图，该病是人类中的一种单基因隐性遗传病。

的缘故。

如果一个Ⅱ型白化病的男性(基因型 aa)与同样具有Ⅱ型白化病的女性(基因型也为 aa)结婚,那么他们所有的孩子都将是白化病患者(基因型 aa)。但是,假如一个非白化病的男性与一个白化病的女人结婚(我们假定这位男性是显性基因 A 的纯合子;因为白化病是很罕见的,如果他的家族中没有这种患者,我们关于他这种基因型的假设就很可能是对的),他们的子女的肤色就应该是正常的,也就是说,没有白化病。这一结果对应于孟德尔的与纯合子豌豆杂交的实验。他们的父亲传递给每个配子一个显性的 A,而他们的母亲贡献出一个隐性的 a。因此子代的基因型为 Aa,所有的人都是显性的表型(图 19-21)。如果这些孩子某一天开始组建自己的家庭,而另一方也具有同样的基因型(其父亲或母亲之一为白化病患者)。我们可以预测他们的子女会符合孟德尔 F_2 代中的模式:平均每 3 个正常的孩子对应 1 个白化病的孩子。或者从单个孩子的角度,每个都有 25%的概率得到两个隐性基因。

当然,人类不可能有这么大的家族来保证精确地符合孟德尔比例(孟德尔的比例是通过培育和计数成千上万个杂交的豌豆得来的)。对人类中某些性状的遗传感兴趣的科学家是通过研究大的家庭或者大的家族几代人来解决这个问题的。为了追踪这些信息和描述遗传的模式,科学家们用**系谱**来表示每个家庭成员的表型。图 19-22 显示的就是孟德尔法则的一个重要实例:它阐释了嫡表兄妹的婚姻是如何极大地增加了其子女获得一个纯合隐性突变的风险从而表现出突变表型的机制。

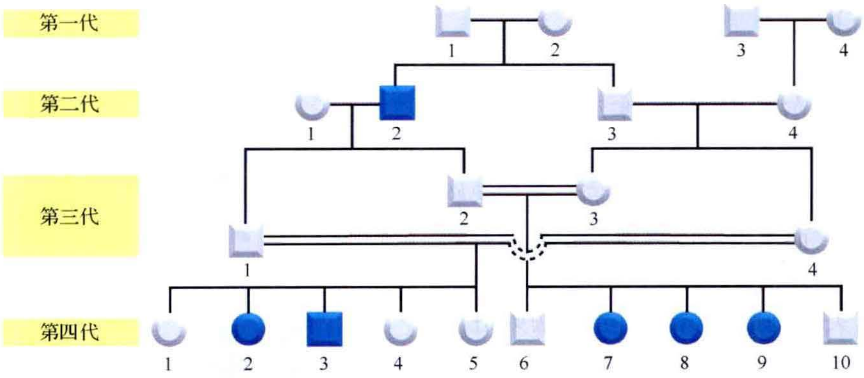


图 19-22 嫡表兄妹婚姻致病风险系谱。这里显示的是一个真实的含有罕见隐性致聋突变的家庭的系谱。按照常规,方形表示男性,圆形表示女性。家庭成员中具有耳聋表型的用填充的图形表示(蓝色),正常的则用空心的表示(白色)。男性与女性间的婚配用单条水平线表示二者无血缘关系,双线则表示二者有亲缘关系。其婚配产生的子女在下面一行,出生顺序为从左到右。

为了便于识别,每一代中的个体从左到右标记。例如,系谱中的第三代,表型正常的男性(个体 2)与其表型正常的表妹(个体 3)结婚。他们 5 个孩子中的 3 个(第四代中的个体 7,8,9)耳聋。而同时,他的哥哥(个体 1)同样娶了自己的表妹(个体 4)。他们 5 个孩子中的 2 个耳聋。(经 BMC 医学遗传学杂志同意,摘自 Z. M. Ahmed et al., *BMC Med. Genet.* 5:24,2004.)。

19.3.6 决定不同性状的等位基因间独立分离

孟德尔在研究时有意地通过实行单杂交简化了遗传学的问题,也就是每次实验只研究一种性状。而接下来,他又同时研究了两个或更多的看上去毫不相关的性状的遗传方式。

最简单的情况是双因子杂交,就是同时研究两种性状,如种子颜色和种子形状。对于种子的颜色,我们已经了解到黄色是显性的,而绿色是隐性的。而对于种子的性状,圆形是显性的,皱缩是隐性的。当这两种具有不同性状的植株杂交时又会发生什么情况呢?同样的,孟德尔采

用纯种的亲本植株：产黄色圆形种子的显性植株（基因型 *YYRR*），产绿色皱缩种子的植株（基因型 *yyrr*）。一种可能性是，这两种性状，种皮颜色和形状，以打包的形式从亲代传给子代。也就是说，植物或者产生黄色圆形的种子，或者产生绿色皱缩的种子。另一种可能性是种子颜色和性状各自独立遗传，这就会在某种意义上会产生一种新的具有混合性状的子代，黄色皱缩豌豆和绿色圆形豌豆。

孟德尔种植这些植物并认真地做好记录。正如预期的一样，F_1 代均为一种表型：所有的植株都产黄色圆形的种子。但是，亲代的各个等位基因不管是否连锁同样会产生这样的结果。而当这些 F_1 的植株自交后，结果清楚地表明每个性状是独立遗传的；也就是，决定种子颜色和形状的等位基因相互独立地遗传，产生了四种不同的种子表型：黄圆，黄皱，绿圆，绿皱（图 19-23）。孟德尔以两两组合的方式试验了豌豆的 7 种性状，均在 F_2 代中观察到性状比为 9∶3∶3∶1。配子形成时每对等位基因的独立分离被称为孟德尔第二定律——**自由组合定律**。

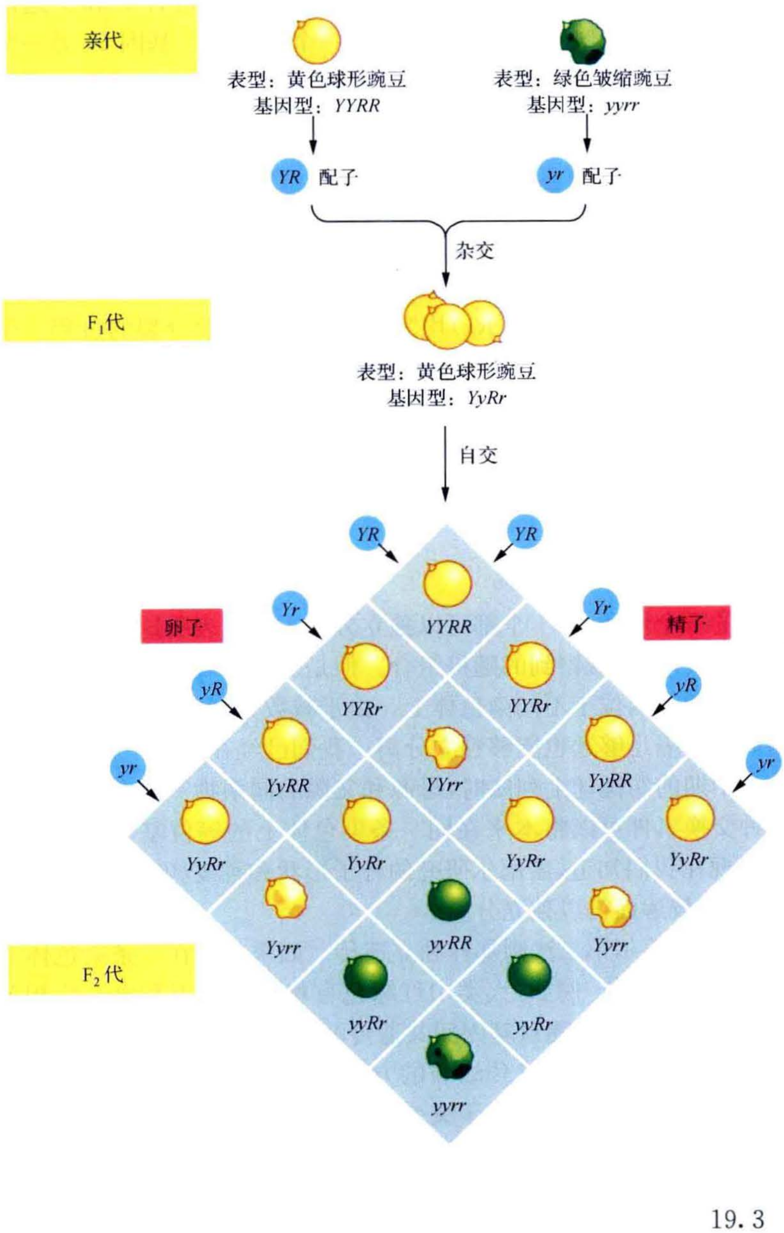


图 19-23　双因子杂交实验表明决定不同性状的等位基因相互独立分离。当等位基因独立分离时，它们进入配子的组合方式是任意的。配子形成时 *Y* 与 *R* 或 *r* 被包装在一起的概率是相同的；反之 *y* 亦然。因此，将产生相对等量的四种配子：*YR*，*Yr*，*yR* 和 *yr*。而这些配子以随机的方式结合产生 F_2 代时，所产生的种子的表型黄圆∶黄皱∶绿圆∶绿皱为 9∶3∶3∶1。

19.3.7 减数分裂时孟德尔遗传法则下的染色体行为

到此为止，我们已经在理论上讨论了等位基因和基因这些概念。但作为生物学家，我们对遗传更感兴趣，而不是豌豆开紫花或者小孩子得白化病的概率这些数学上比例和概率性的问题。我们想去揭示精子、卵子以及产生的合子中的遗传信息的传递是如何来完成的。孟德尔曾推测基因在细胞内，但他不知道基因是由什么组成的，也不知道在哪里能找到这些基因。我们现在知道，孟德尔的“因子”——我们称为基因——是在染色体上，它们在配子形成时被打包分离而在受精时又以新的组合在合子中重新结合在一起。因此，染色体就成为孟德尔法则的物质基础。而在下文中，我们将会看到在减数分裂和受精时染色体的行为是如何完美地诠释孟德尔法则。

正如我们在上节中提到的，减数分裂时，母源和父源的染色体同系物连同它们所承载的基因，相互配对然后又彼此分离，成组地被分配到配子中去。这些同源染色体携带着基因不同的变体——等位基因。例如，种子颜色基因杂合(Yy)的豌豆植株，减数分裂时，带有 Y 和 y 这两个等位基因的染色体将会分离，产生两种类型的单倍体配子——一个含有等位基因 Y，另一个则含有 y。自花授粉情况下，这些单倍体配子随机的组成下一代的二倍体个体——基因型可能为 YY，Yy 或者 yy。减数分裂中等位基因分离进入配子并在受精时随机重组的机制，所产生的结果与孟德尔遗传法则描述的一致。

减数分裂时，每组配对的同源染色体分别与纺锤丝结合。这种在中期的纺锤丝上随机的排列，反映了孟德尔法则中的自由组合，因为不同染色体上的基因是独立遗传的。虽然每个配子得到且仅得到每条染色体的一份拷贝，但是最终却是父源和母源同系物的随机组合(图 19-13A)。

图 19-24 描述了一株种子颜色(Yy)和种子性状(Rr)均为杂合的豌豆减数分裂的过程。带有决定种子颜色等位基因的染色体对以一定的方向结合在纺锤丝上。究竟是带有 Y 的同源染色体还是带有 y 的同源染色体被来自两极之一的微管捕获取决于在结合的瞬间二价染色体的朝向(图 19-24)。而对于决定种子形状的等位基因也是如此。因此，最终的配子是 YR，Yr，yR 还是 yr 的组合完全取决于两对染色体在被纺锤丝捕获时的方向，而这样的概率如同抛硬币一样是随机的。

19.3.8 染色体交换可以用于测定基因的距离

孟德尔研究了 7 个基因决定的 7 个性状，每 1 个都可以独立分离。研究表明这些基因大部分位于不同的染色体上，这就容易解释他所观察到的随机组合。但是孟德尔观察到的自由组合的性状并不一定非要决定这些性状的基因位于不同染色体上。由于减数分裂时会发生交换，因此假如同一条染色体上的基因彼此相隔足够远也能够独立分离。我们已经在前文中提到，当成对的染色体形成二价染色体并在中期的纺锤丝上列队时，母源和父源的同系物一般会发生几次重组事件来交换遗传信息。这种交换事件可以将本来在同一条染色体上的等位基因分离而进入不同的配子(图 19-25)。例如，现在我们知道，孟德尔研究的种子形状和种皮颜色的基因位于同一条染色体上，但是因为二者距离较远而得以独立分离。

当然，并不是所有的基因都能像孟德尔第二法则那样独立遗传。如果基因在一条染色体上的距离较近，它们更可能作为一个单位遗传。例如，人类中红绿色盲相关的基因和血友病相关的基因就是因为这种原因而在一起遗传。通过测量基因间共遗传的频率，研究者可以确定二者是不是在一条染色体上或者二者相距多远。这种遗传连锁的方式已经确定了许多生物体不同基因在染色体上的相对距离。这种遗传图谱已经在由于突变而使人致病的基因的克隆和研究中起到重要的作用，如囊性纤维化病。

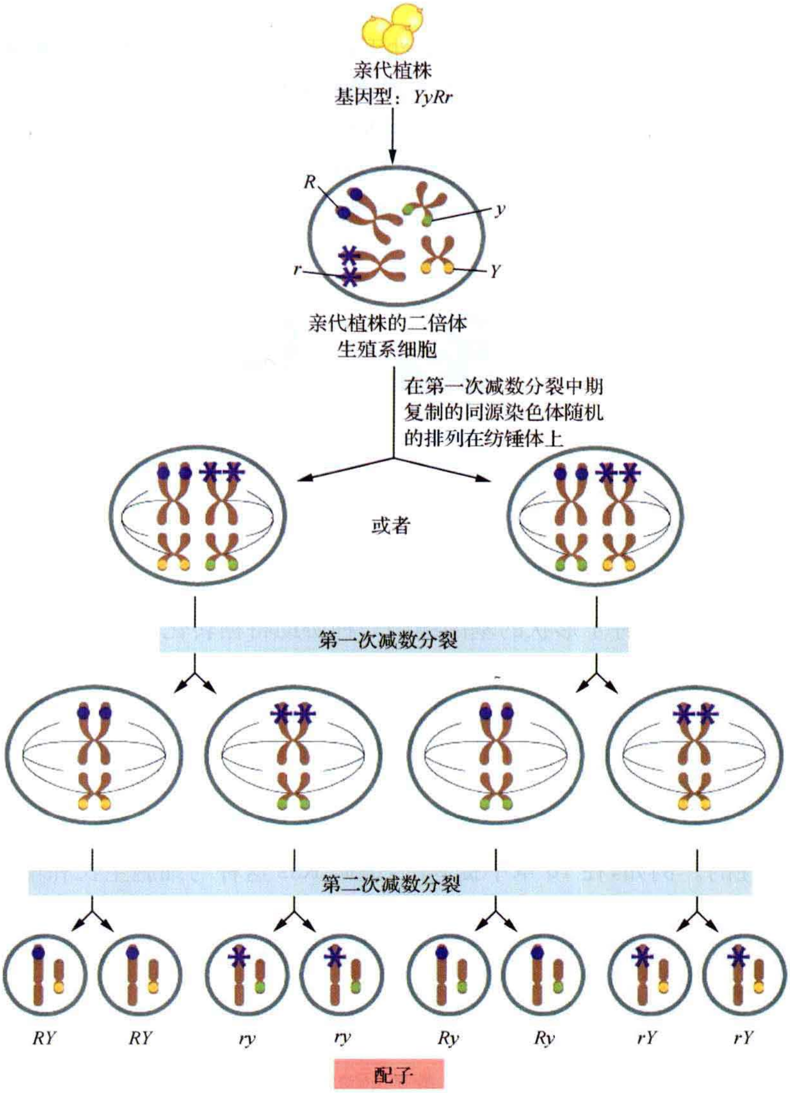


图 19-24　减数分裂时染色体的分离解释了孟德尔的分离定律和自由组合定律。这里我们所展示的是位于不同染色体上的两个基因的自由组合，这两个基因分别决定种子颜色的 Y（黄色）y（绿色）和种子形状 R（圆形）r（皱缩）。为了简单起见，图示中没有涉及同源染色体间的交换；而如果交换发生，自由组合的结果也是相同的（假设种子颜色和形状这两个基因是位于不同染色体上的）。

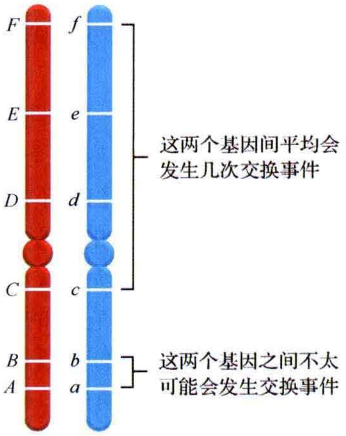


图 19-25　同一条染色体上较远的基因可以独立分离。因为在第一次减数分裂前期，每条染色体随机的发生几次交换事件，而使同一条染色体上相距较远的两个基因也会遵守孟德尔的自由组合定律。因此，如果在 C/c 和 F/f 间较长的区域发生较高概率的交换，那么在配子中就会使 F 与 c 在一起而不是本来的 C。反之，A/a 和 B/b 两个基因比较近，因此它们之间发生交换的几率就较低。结果是，等位基因 A 与 B 一起遗传，而 a 与 b 一起遗传的可能性更大。从重组的频率，我们可以估算基因间的距离。

19.3.9 突变可以导致基因功能的丧失或获得

突变可以分为几种不同的类型(图 19-26)。导致基因活性下降或消失的突变被称为**功能丧失性突变**。如果一个生物体得到了两份带有功能丧失性突变的等位基因,通常会表现出突变的表型——不同于正常的具有普遍性的表型。而具有一份突变的等位基因和一份正常的等位基因的杂合子通常可以产生足够的功能正常的基因产物因而表型正常(图版 19-1)。因此,功能丧失的突变一般是隐性的,因为对于大多数基因,正常数量一半的基因产物仍然可以让细胞正常工作。

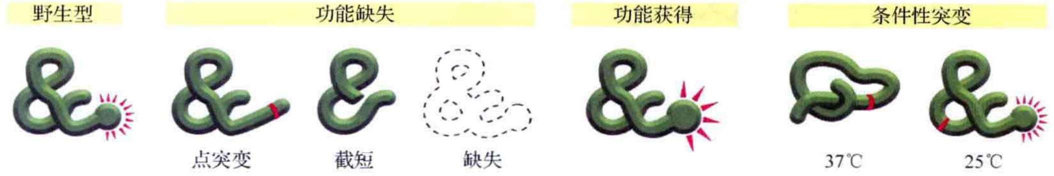


图 19-26 基因突变影响蛋白质产物的方式多样。在这个例子中,野生型的蛋白质具有特殊的细胞学功能,以红色的射线表示。消除其功能的突变使其机能亢进,或者使其对较高的温度敏感。温度敏感型突变是一种条件性突变:等位基因在一种条件下产生有功能的产物(如 25℃),而在另一种条件下产物无活性。在该例子中,突变导致了蛋白质的氨基酸替换(红色表示),而使其在 25℃而非在 37℃ 才能正确折叠。

以孟德尔研究的皱缩豌豆为例,决定种子形状的基因编码一种协助将糖转化为分支状淀粉分子的酶。野生型的显性基因 *R*,能够编码具有功能的酶;而隐性的突变的等位基因 *r* 则不能。因为缺少这种酶,具有 *rr* 等位基因的纯合子植株就比具有显性等位基因 *R* 的植株含有更多的糖而不是淀粉,从而导致其种子发生皱缩(超市中卖的冰冻豌豆就是皱缩的突变株,尽管它们携带的等位基因不一定与孟德尔所研究过的相同)。

另一种类型的突变所产生的蛋白质产物是活性过强的,或者在不适当的环境中活性过强。这种**功能获得性突变**通常是显性的。例如,在 16 章中提到的,编码 Ras 这种与细胞生长和增殖有关的蛋白质的某些突变,会产生一种持续性激活的蛋白质而将野生型的蛋白质屏蔽掉。即使在没有任何生长信号的情况下,这种突变的 Ras 蛋白也可以刺激细胞进行分裂。人类中约30%癌症的 *Ras* 基因中具有这种突变。

19.3.10 每个人都携带很多潜在的隐性的有害突变

正如我们在第 9 章中所了解到的,突变为进化提供了重要的资源。突变可以改变生物体的适应能力,使其更适应于或者更不适应于生存和产生后代。自然选择决定这些突变的去留。这些赋予生物体选择性优势的变化使其长久不衰,反之那些降低生物体适应性的变化则会使其逐渐灭绝。

随机产生的突变绝大多数或者是中性的(不影响表型),或者是有害的。一个显性的有害突变(单份拷贝就会产生负面作用),几乎是一旦产生就会被消除掉:如果一个突变的个体不能够产生子代,那么这个突变就会随着该个体的死亡而在种群中消失。而对于隐性的有害突变,情况就会变得有些复杂。当这种突变第一次产生时(通过一些作用于 DNA 分子的化学事故),一般以单份拷贝的形式存在,而这种突变的携带者会和正常个体一样产生很多的后代。这些后代中的许多个体会遗传有该突变的一份拷贝,它们也会很正常和健康。但是,当它们的后裔开始互相交配时,某些个体会遗传有两份这样的突变的等位基因,从而表现出有害的表型。

如果这种纯合的个体不产生后代,这两份突变的等位基因就会在群体中消失。最终,会达到一种平衡,产生的新等位基因的拷贝的比例与因为交配产生纯合子个体而失掉的拷贝的比例平衡。结果是,即使显示出有害表型的个体非常的罕见,许多有害的隐性突变却在群体中以惊

人的频率存在着。因此，最常见的遗传性耳聋(由间隙连接蛋白突变引起，见图 20-29)的儿童的出生率为 1/4000；而在人群中这种功能丧失性突变的携带率却是 1/30。

19.4 遗传学作为实验工具

认识到染色体是我们的基因从一代传递到下一代的结构基础的意义不仅在于解开了遗传之谜，它还将遗传学与其他科学联系在一起，如细胞生物学、生物化学、生理学以及医学。而且这也导致了基因本质是 DNA 这一发现。以此为媒介，遗传学开拓了新的发现之路。通过对 DNA 的遗传操作以及所含信息的挖掘，我们可以了解到我们的基因是如何一起行使功能从而产生表型，以及个体间的差异是由哪些基因间的差别决定的。将来，我们可以利用遗传学的知识更加精确地诊断和治疗人类的疾病，同时解码人类个体间的异同，不仅是与其他种族，而且包括其他物种。

在本节中，我们将概述经典的遗传学方法，以及利用这些手段如何鉴定基因，研究基因是如何影响生物体表型的。这个过程涉及有目的地在实验室中产生大量的突变体，然后筛选出少数的具有感兴趣的表型的个体。这种*遗传筛选*鉴定出决定表型的基因突变。通过分析这些突变个体及其子代，我们可以追溯并研究这些基因本身的特征，而最终我们将阐释出这些基因到表型的因果联系。

现代技术为研究基因的功能提供了更多的手段。在本节的最后一部分，我们将会讨论如何从全世界收集的人类 DNA 样品中解码出决定多性状和遗传疾病的复杂基因的信息，以及我们物种的进化之谜。

19.4.1 经典的方法始于随机突变

在 DNA 重组技术(见第 10 章)产生之前，大多数的基因研究都是建立在通过观察基因突变后的表型变化上。这种方法首先要分离具有特殊表型的突变体，如果蝇中的白眼睛、卷翅。反向研究这些表型，我们就能确定其基因型。这一经典的遗传学方法——寻找突变的表型，然后找到决定这些表型的基因——适用于增殖旺盛、易于基因操作的生物体，如细菌、酵母、线虫和果蝇。

尽管自发突变能够在极大数量的样品(通常是成千上万个个体)中找到，但是这一过程可以通过采用*诱变剂*(破坏 DNA 的试剂)处理，人为的产生突变而大大提高效率。不同的诱变剂可以使 DNA 产生不同类型的变化(图 19-27)。用诱变剂处理生物体，可以迅速产生大量突变体，然后再筛选某一特定的突变体。

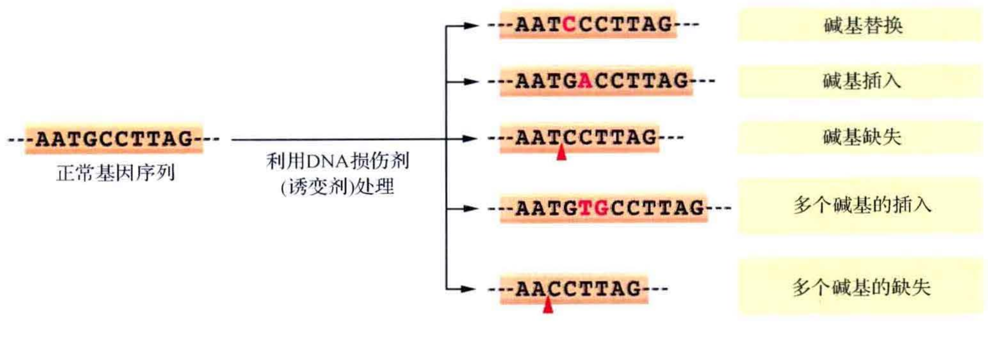


图 19-27 多种 DNA 改变可以导致突变。这里显示的是基本的类型。不同的诱变剂使 DNA 产生不同类型的变化。

在线虫及果蝇中研究决定某一表型的基因，诱发突变是一种非常强大的工具。但是，在人

类中我们又是如何来研究的呢？与我们已经讨论的生物体不同的是，人的生长周期长，对人使用诱变剂更是行不通。而且，如果一些基本过程如 DNA 复制产生严重缺陷，人早就在出生前死亡了。

主要有两种方法来解决以上问题。第一，因为基因和基因的功能在进化的过程中是高度保守的，人类中的许多基因，可以在其他生物体中找到相对应的同源基因，我们可以在这些适于实验的生物体中研究基因的功能。相应的人类基因可以进一步的在培养的人类细胞中进行研究。第二，许多并不致命的突变，如前文提到的耳聋，在人群中的自发突变数量也很大，因为人的群体本身也是很大的。对这些患者表型的分析，以及对他们的细胞培养的研究，已经为人类基因功能的研究提供了许多独特的见解。虽然这些突变非常的罕见，但是他们还是很有效地被发现了：因为这些患者注意到了自身的异常，并在寻找特殊的医疗帮助时被研究者追踪到。

19.4.2 遗传筛选鉴定造成专一性细胞学过程缺陷的突变

遗传筛选经常需要检测成千上万个突变的个体，然后确定几个具有突变表型的个体。例如，为了筛选与细胞代谢相关的基因，必须在突变的细胞中筛选出那些在缺乏某种氨基酸或者其他营养因子的条件下不生长的个体。

但是，如果我们要研究与细胞基本活动相关的基因时，问题就出现了，如 RNA 合成或者细胞周期调控。这些基因的缺陷常常是致命的，这也就意味着为了繁殖一大批携带有突变的个体必须采取某种特殊的措施。如果得不到突变体，就不能利用它们来研究基因的功能。

如果研究对象是二倍体——如小鼠或者豌豆——并且突变表型是隐性的，有一种简单的方法。那就是繁育具有一份正常拷贝和一份缺陷型拷贝杂合子，虽然它们的表型是正常的，但是当它们互相交配时，就会有 25%的子代是具有致命突变表型的纯合突变体，而另外的 50%像它们的亲代一样是杂合的携带者，可以留作下一步的繁育。

如果研究对象是单倍体呢？一种方法就是应用温度敏感型突变株。在这些突变株中，基因的蛋白产物是条件缺陷型的：在某一温度范围内（温度允许范围），其功能是正常的，而稍稍超过这一范围其功能就会失活（图 19-26）。因此在实验中，可以通过改变温度来调控基因产物的活性。在关键基因上具有温度敏感型突变的细胞可以在一定的温度范围内存活；而温度改变后，突变的表型就呈现出来了（图 19-28）。

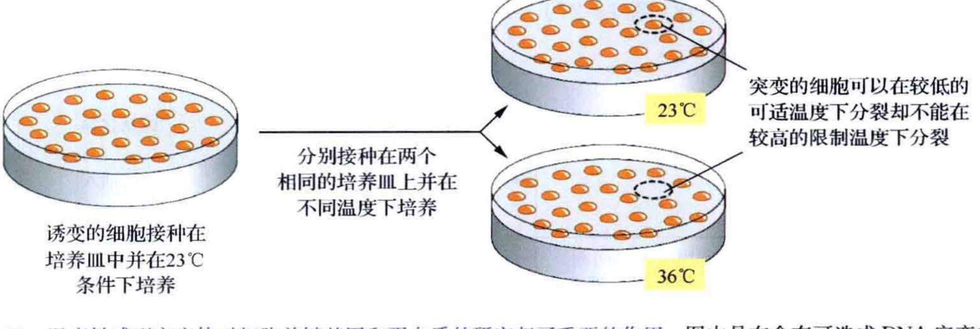


图 19-28 温度敏感型突变体对细胞关键基因和蛋白质的研究起了重要的作用。图中是在含有可造成 DNA 突变的化学药物中培养的酵母。将它们涂布在平板上，在较低的温度下培养形成克隆。然后这些克隆通过影印接种法转印到两个相同的平皿上，其中一个在低温下培养，另一个则在较高的温度下培养。那些在细胞增殖关键基因中含有温度敏感型突变的菌株就可以被筛选出来了，因为这些细胞可以在较低的温度（适宜温度）下生长，而不能在较高的温度（非适宜温度或者限制温度）下生长。

许多温度敏感型的突变菌株已被筛选出来，用于研究编码 DNA 复制蛋白质的基因。大量的经过诱变剂处理的细菌被用于筛选。在温度从 30℃ 升到 42℃时，停止复制 DNA 的菌株被挑选出来。温度敏感型的突变株还经常用来研究细胞周期调控蛋白(见 18 章)和酵母中蛋白分泌途径中的基因(见 15 章)。

决定复杂表型的基因，如与学习和行为相关的基因，也可以在模式生物中进行遗传筛选而鉴定出来。例如，研究者通过筛选独自捕食的个体而将决定线虫的群体性捕食的基因筛选出来(图 19-29)。

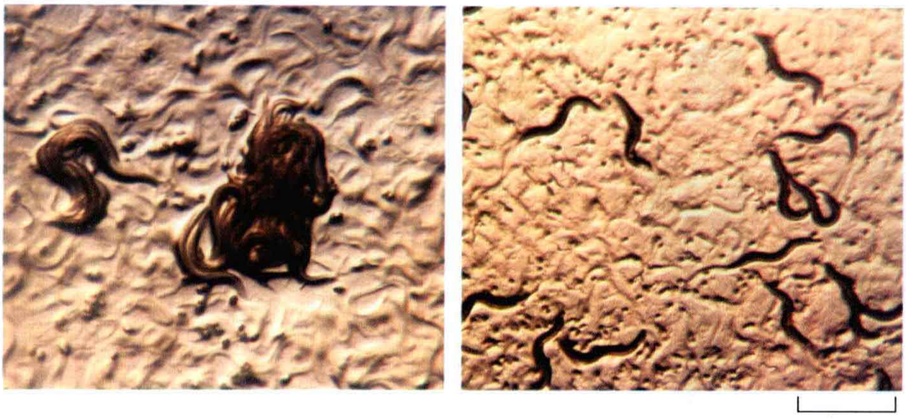


图 19-29 基因筛选可以用于研究影响动物行为的基因。(A) 野生型的秀丽线虫是群体性捕食。线虫一直游到有同伴的地方才开始停下来进食；(B) 突变的线虫单独进食。(经 Elsevier 出版集团授权，蒙 Cornelia Bargmann 同意，摘自 1998 年 94 期 *Cell* 杂志封面)

19.4.3 互补实验检测两个突变是否在同一个基因上

大规模的遗传筛选可以产生具有同一表型的多种突变体，这些突变可能位于决定同一进程的不同基因上，也可能是同一基因的不同突变。我们如何来区分这两种可能性呢？如果这种突变是隐性的——假设这种突变导致了某一基因功能的丧失，**互补实验**可以检测这些突变是在同一基因上还是在不同的基因上。

最简单的互补实验是，当一个隐性突变的纯合个体——在等位基因上有两份相同的突变，与另一个隐性突变的纯合个体交配。如果两个突变是在同一个基因上，子代将会表现出突变的表型，因为它们所携带基因的两份拷贝都是缺陷型的(图版 19-1)。反之，如果突变位于不同的基因上，那么子代会表现出正常的野生型，因为它们每个基因都含有一份正常的拷贝和一份突变的拷贝。

在这个实验中，如果正常的表型得到了回复，那么从亲代得到的两组等位基因称为互相补偿(图 19-30)。例如，在对酵母的互补实验检测中鉴定了 5 个半乳糖消化必需基因；在大肠杆菌中鉴定了 20 个鞭毛生成必需基因；而从一个受精卵发育成为成熟的线虫则需要上百个基因。

19.4.4 单碱基多态性(SNP)作为遗传图谱的标记

随着最近人类基因组测序的完成，我们能够采用几年前所不可能的方式去研究遗传学。以人类基因组序列为起点，通过基因测序，我们就可以直接地发现个体间 DNA 序列的差别。

除同卵双胞胎外，没有两个人的基因组是相同的。我们每个人基因组上的一系列碱基变异使我们变得独一无二。在基因组中的某些位点的变异是普遍且无害的，因此任意两个人就很可

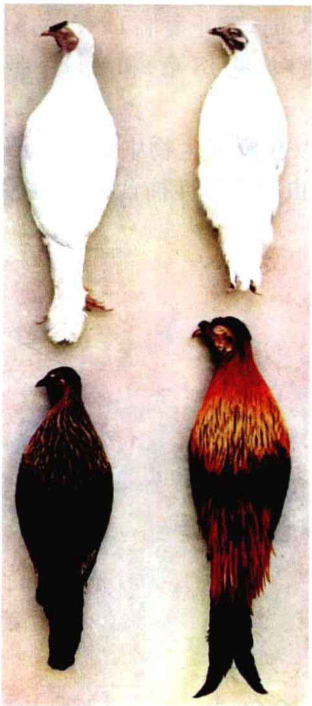


图 19-30　互补实验揭示了两个不同的基因决定同一种表型。在这次杂交中，一个隐性白种的雌鸟（左上）与白色光滑的雄鸟（未显示）交配。结果子代为正常的着色（下图），提示两个白种鸟是因为不同基因的突变导致的白色。右上图为光滑的雌鸟。（经剑桥大学出版社同意，引自 W. Bateson 的《孟德尔遗传法则》，第一版）

能在这样的位点上不一样。在这种情况下，如果在群体中普遍地存在两个或两个以上的序列变异，这些变异被称为**多态性**。有些多态性与大片段的 DNA 插入和缺失有关，但更普遍的是单个碱基替换的变异。

典型地，任意两个人约有 0.1%的核苷酸序列差异（大约每 1000 个碱基中有 1 个是不同的）。也就是两个人之间约有 300 000 000 个单碱基的差异。这种**单碱基多态性（SNP**，图 19-31），可以作为遗传图谱的标记，或者用于研究某一疾病或者疾病易感性相关的突变。在“**我们如何得知**”这一专栏中，将会阐释 SNP 如何应用于疾病的研究中。有些突变是有规律地可重复性发生，它们引起的是罕见但是病因清楚的疾病，如白化病或者先天性耳聋，这些突变可以通过家族研究而精确定位。而一些多因素的常见病，如糖尿病或者关节炎，则需要采用一种不同的方法。这种情况下，没有一个基因是最重要的，而是许多基因，还有环境因素，影响着发病的风险。但是，在 SNP 分析的帮助下追踪这些基因成为可能。

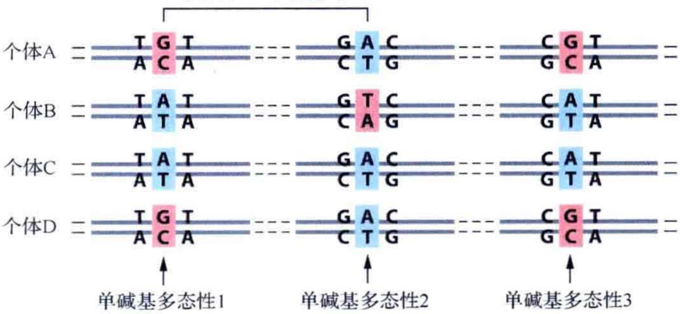


图 19-31　单碱基多态性（SNP）是指基因组上的某个位点在人群中普遍具有两个或以上的变异。在人类基因组中，这些变异多数发生在不会显著影响基因功能的位置上。

为了这一目的，研究者收集大量患者的 DNA，然后与作为对照的正常人的 DNA 比较。假

设某一基因的等位基因增加了患心脏病的风险，遗传了该等位基因的人同样也遗传了与该等位基因连锁的 SNP。因此，在心脏病患者中普遍存在的 SNP 作为一个标记，提示在基因组中某个邻近的位置上存在着一个风险基因(图 19-32)。

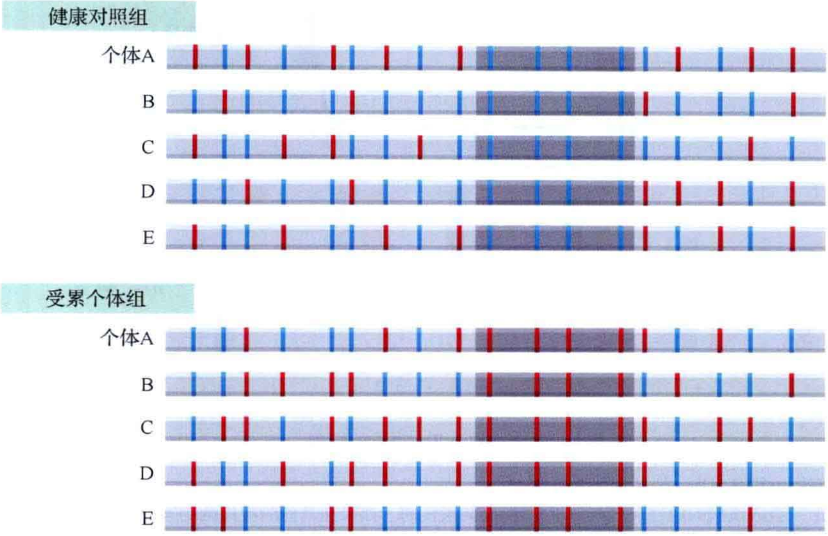


图 19-32 某些常见病致病相关基因可以通过 SNP 的连锁分析来定位。这里显示的是两种类型的个体的 SNP，一种是健康的对照，另一种则是某种疾病的患者。图示为染色体中典型的一个片段，对于大多数的多态性位点，是一种非此(红色)即彼(蓝色)的随机的方式，而且在正常对照组和患病组中均是随机的。但是，在染色体中的一部分(标记为深灰色)则是有区别的，大多数正常个体为蓝色 SNP 的变异，反之，大多数患者具有红色 SNP 的变异。这就强烈地提示该区域含有或者邻近于疾病的易感基因，而该基因与红色的 SNP 连锁。精心选择的对照组和大样本的个体(以千计数)，这种技术可以定位疾病相关的基因，即使这种等位基因(SNP 变异)对疾病的发生只起到很小的作用。

我们如何得知：利用 SNP 揭开人类疾病的面纱

对于具有遗传因素的疾病，找到与疾病相关的基因是改善诊断的第一步，甚至是改善治疗的手段。这项任务并不简单，但是对 SNP 的研究可以提供一定的帮助。1999 年，国际上的一些科学家开始收集并对 300 000个 SNP(人群中普遍存在的单碱基多态性)进行分类(图 19-31)。目前为止，这个数据库已经包括了超过 1 亿种不同的 SNP。这些 SNP 不仅可以区分出个体间的差别，而且对于遗传学家来说，它们还是定位人类疾病相关基因的路标，如糖尿病、肥胖、哮喘、关节炎甚至胆结石和腿多动综合征等。

遗传作图

遗传学家利用 SNP 寻找疾病的相关基因，他们在构建详细的遗传连锁图谱时将 SNP 作为物理标记。遗传连锁图谱显示了基因间的相对位置。这种图谱是以两个等位基因共遗传的频率为依据的，而这种共遗传现象是通过观察这些等位基因决定的表型在同一个个体出现的频率来计算的。在同一条染色体上相距较近的基因共遗传的概率要高于相距较远的基因。通过研究两个基因由于重组而分离的概率，可以计算出二者之间的相对距离(图版 19-1)。

同样类似的分析可用于研究基因和 SNP 间的连锁，只需要观察 SNP 变体(通过 DNA 测序检测确定)和基因(通过检测基因所决定的表型确定)间的共遗传现象。如果连锁就表明基因位于这些 SNP 附近(图 19-33)，而因为我们已经知道了每个 SNP 的具体位置，所以就相当于定位了这些基因在染色体上大体的物理位置。对这一区域更加精细的分析，如检测受累个体 DNA 序列的缺失，插入或者其他功能性的显著异常，就可以精确定位决定性状的关键基因。

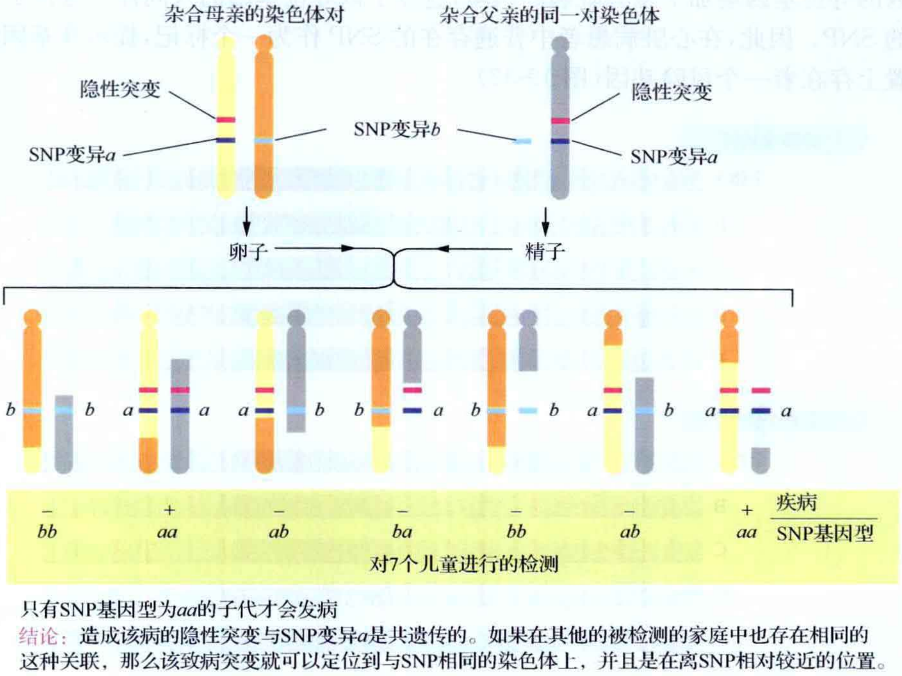


图 19-33　SNP 分析可以定位导致遗传性疾病的突变的位置。在该研究中，研究者分析了人类某一特定的表型（此处为遗传性疾病）与某一组特定的 SNP 间的共遗传的关系。图示以一个父母双方均为隐性突变携带者的家庭为例，如果患者几乎总是某一特定 SNP 的纯合子，那么这个 SNP 就很可能与致病的隐性突变位于同一条染色体上，而且位置较近。为了证明这种连锁是具有统计学意义的，这种类似的家庭中的其他成员也应该被检测。分析的个体和 SNP 越多，就越可能更精确地定位突变。

这种连锁分析经常在对疾病易感的家族中进行，而且家族越大越好。如果某一家族的成员是否患病和某一特定突变间存在这种直接的简单因果联系，那么该方法就非常有效。但大部分的疾病并非如此，而是多个因素影响着疾病的风险——遗传上的、环境中的或者仅仅是概率的问题。而对于这种情况，需要另外一种不同的方法。

关联分析

遗传关联研究使我们能够发现影响常见疾病风险普遍性的基因变异，即使这种变异所起到的作用微乎其微。由于破坏某个关键基因活性的突变会对个体的适应度产生灾难性的影响，所以这些突变更倾向于从群体中被消除而变得非常罕见。相反地，那些对基因功能影响较小的基因变异则非常普遍。运用关联分析捕获这些微小且普通的变化，我们可以鉴定出一些常见疾病的生物学中起重要作用的基因。

基因关联分析直接比较两个人群的 DNA 序列：患病个体的群体及正常人群。关联分析寻找一些遗传标记，如 SNP 变异，这些遗传标记在患病个体中出现的概率远大于预期的正常人群出现的概率。这些 SNP 变异本身也可能增加患病的风险，或者与其他的多态性或突变连锁。

以年龄相关性黄斑变性（age-related macular degeneration，AMD）这种退行性疾病为例，该病是导致老年人失明的主要原因。为了研究与 AMD 相关的基因变异，研究者分析了涵盖整个基因组的超过 10 万个 SNP。他们对 96 个 AMD 患者和 50 个正常人中所有的这些 SNP 进行了测序。在这 10 万个 SNP 中，有一种 SNP 在患者中出现的频率显著高于正常人（图 19-34）。

这种 SNP 位于基因 *Cfh*（complement factor H，补体因子 H）的一个内含子中，一般认为这样不会影响蛋白产物。因此，表面上这种SNP本身并不会增加疾病的易感性。但是它把研究者的注意力吸引到了*Cfh*基因上。

于是，研究者对这一区域进行了重新测序，试图寻找出其他有可能与AMD相关的多态性。他们发现了另外三种可能导致*Cfh*蛋白氨基酸序列改变的变异。其中的一个最有可能与该疾病相关，它将*Cfh*蛋白中的一个组氨酸替换为酪氨酸，并且与最初将研究者引向*Cfh*基因的SNP连锁。携带该等位基因两份拷贝的个体患AMD的概率是不携带该等位基因个体的5～7倍。

应用同样的基因关联研究方法，另外的几个研究组也同样发现*Cfh*的变异会增加AMD疾病的患病风险，这就使我们确信该基因与AMD的疾病发生有关。*Cfh*属于补体系统，介导免疫和感染。正常的蛋白质抑制补体系统的过度激活。而有趣的是，许多与该疾病相关的环境因素，如吸烟、肥胖和年龄，都影响补体系统的活性。不管*Cfh*基因影响AMD患病风险具体的机制是什么，补体系统是关键因素这一发现，对该病的早期诊断和可能的治疗都具有重要的指导意义。

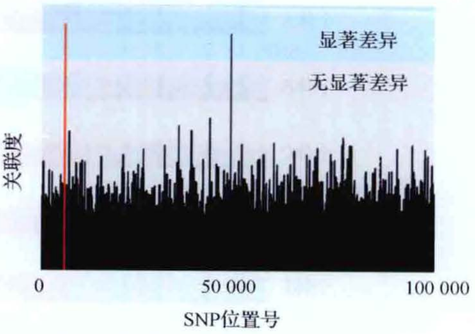


图 19-34 遗传关联分析检测患病人群中高频的DNA变异。在该研究中，科学家筛查了146个人中超过10万种不同的SNP。图片的X轴表示每个SNP在基因组中的相对位置，从最左边开始是位于1号染色体上的SNP。Y轴表示的是每种与AMD疾病相关的SNP强度。蓝色区域表示在所检测的10万种SNP中，单纯偶然性出现的概率小于0.05的强度。红色的SNP即为指向*Cfh*基因的SNP。经过进一步测序后，其他显著的SNP消失了，可能是由于原始的基因分型的误差造成的。（经美国科学促进会允许，摘自R. J. Klein et al., *Science* 308: 385-389, 2005）

这种方法用于寻找人类常见病的易感基因，如糖尿病、冠心病、风湿性关节炎、双极性疾病（躁狂抑郁症），等等。在这些疾病中，环境因素和遗传因素同样起着重要的作用（图19-35）。而且，致病的遗传因素也很复杂：不是一种而是多种基因与疾病的发生有关。通过寻找这些相关基因和多态现象，不仅可以诊断和帮助患病风险高的人，同时也利于研究疾病发生的分子机制。

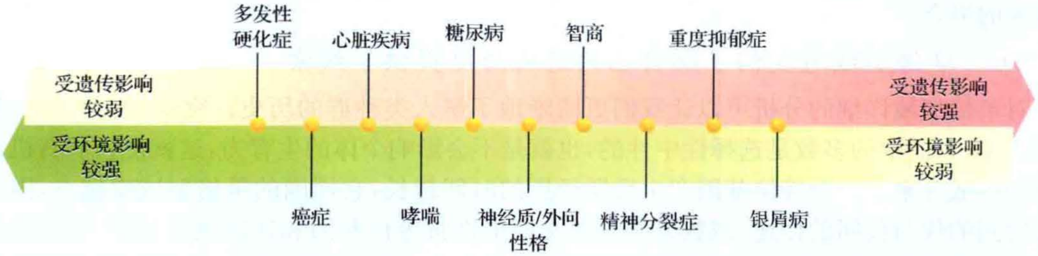


图 19-35 受环境因素影响强或弱的人类性状。对同卵和异卵双胞胎的研究揭示了遗传和环境因素对多种人类性状贡献的大和小。

19.4.5 连锁的SNP组成单倍型域

当然，定位基因所分析的SNP越多，该计划耗费的财力和人力越多。幸运的是，仅为了遗传作图，没有必要检查人类基因组中所有300万个SNP。这是因为SNP并非全都是独立的毫无联系的：它们与相邻最近的SNP连锁组成**单倍型域**，而作为一个整体遗传。因此，如果一个人在某一个多态性位点上有一个变异，那么很可能也携带其所属单倍型域内的其他多态性位点的变异（图19-36）。所以，只检测每个单倍型域内代表性的一或两个SNP就足够了。

为了便于理解为什么存在单倍型域，我们需要了解一下我们的进化历史。一般认为现代人是从6万多年前非洲的一个相对小的种群中繁衍而来的。在成为我们祖先的这一小群人中，一些个体具有一组遗传变异，其他的个体具有另外的一组。现代人类染色体就是这些祖先染色体不同片段的重新组合。由于从我们的祖先到现在只有约2000代，所以祖先染色体上大的片段

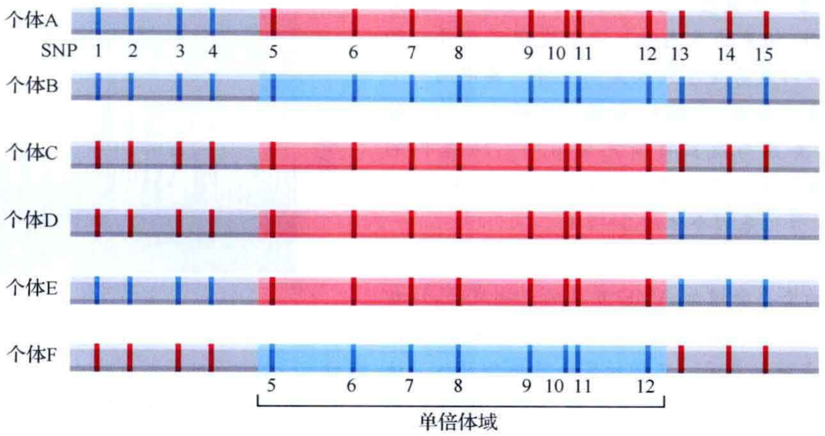


图 19-36 SNP 常常以单倍型域的方式遗传。颜色标示的是 15 个具有多态现象的核苷酸。以 SNP1 为例，人群中某些人可能为 A(蓝色)，另一些可能为 G(红色)。不同的人遗传有不同组合的 SNP，但是 SNP5～12 常常以单倍型域的方式遗传。也就是说，如果在该区域，一条染色体携带的任意一个 SNP 为红色变异，那么剩余的 SNP 也均为红色变异。同理，蓝色变异也是如此。

在从亲代传给子代的减数分裂时所发生的交换中是不会断裂的(注意：每次减数分裂，人类的每条染色只发生少数几次的交换)。结果是，特定的等位基因组合和一些 DNA 标记(如 SNP)以连锁方式遗传。这些祖先的染色体片段，因为其中的等位基因和 DNA 标记以成簇的方式遗传，并且在代与代之间很少进行基因重组，就成为**单倍型域**。与基因和遗传标记具有不同等位形式一样，单倍型域在人群中也只具有几种变体，而每一个都代表了从同一个祖先遗传来的等位基因的组合。

19.4.6 单倍型域为我们了解自己的进化历史提供了线索

对单倍型域详细的分析可以让我们更清晰地了解人类种群的历史。突变使新的等位基因不断产生，它们中的多数是选择性中性的，也就是不会影响个体的生育力，这就使它们有机会在种群中扩散开来。一个等位基因产生后所经历的时间越长，它周围的单倍型域就越小，因为经过长时间的代与代间的传递，减数分裂时的交换事件将等位基因和其周围的 SNP 分开的可能性越大。事实上，通过比较不同人群的单倍型域的大小，可以估算从同一起源的特定突变到现在所经历的时间。以遗传差异分析这种方式，同时结合考古学，可以追溯我们自非洲祖先至今的历史，甚至推演出我们的祖先离开非洲后可能经历的路线(图 19-37)。

选择性中性的突变需要很长的时间才能在种群中扩散开来，而那些明显具有自然选择性优势的突变则会很快的横扫整个种群并且达到很高的频率。例如，如果一个生物体的突变或者变异使其更能抵抗感染，那么它就会有选择优势，因为具有这种变异的生物体更容易存活并且将变异遗传给子代。同样，单倍型域的分析可以估计这一历史性的遗传事件发生的时间。如果这一有利性的突变在种群中发生的时间较近，那么因为重组而将该突变周围区域破坏的可能性就很小，所以它周围的单倍型域就较大。其中的例子就是可以抵抗疟疾的两个等位基因。这两种等位基因在疟疾横行的非洲的种群中分布很广，并且嵌在一个非常大的单倍型域中，这就说明这些保护性的变异是最近才在非洲的基因库中占据了优势，其中一个大约在 2500 年前，另一个大约在 6500 年前。因此，对现代人基因组的分析可以揭示古代人类遭遇某一特定的感染和抵抗这一感染所发展的历史。

图 19-37 现在遍布世界各地的人类起源于 6 万～8 万年前的非洲。这张图显示的是早期成功迁移的人类所可能遵循的路线。虚线显示的是两种离开非洲的路线。对单倍型域的研究显示现代的欧洲人是 3 万～5 万年前的一小群祖先(种群瓶颈)的后裔。尼日利亚人的单倍型域非常小，说明他们的种群建立的时间非常早。这些发现与考古学证据相吻合，说明现代土著大洋洲人(红色实线箭头)和现代欧洲人、中东人(路线未显示)在 45 000 年前到达了他们的目的地。(经美国科学促进会同意，修改自 P. Forster 和 S. Matsumura，*Science* 308：965-966，2005)

在揭示人类的进化之路方面，单倍型图谱和 SNP 图谱提供了一个让我们了解过去的窗口；在发现致病或者防止疾病的基因方面，这些图谱也为我们解决现在的医学问题提供了新的方法。

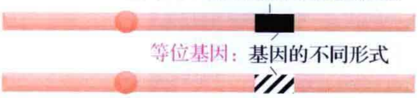
基因和表型

基因：遗传学具有功能的基本单位，通常指某一段编码单个蛋白质的DNA序列。

基因组：某一生物体所有的DNA序列。

基因座：基因在基因组上的位置

等位基因：基因的不同形式

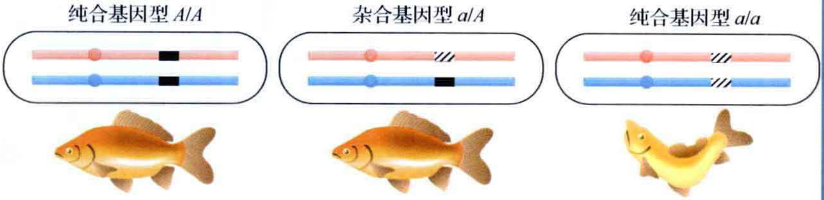


野生型：正常的、自然发生的表型

突变型：因遗传变异(突变)导致的不同于野生型的表型

基因型：组成个体基因组的特殊等位基因的组合

表型：个体可以观察到的特征



等位基因*A*是显性的(相对于*a*)；等位基因*a*是隐性的(相对于*A*)

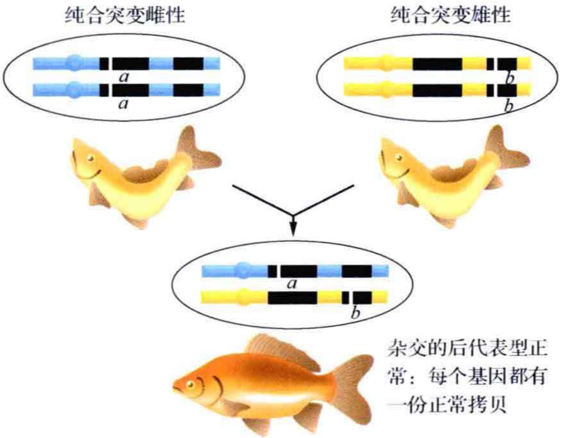
在以上的例子中，杂合子的表型与其中一个纯合子是相同的，若与两者皆不同，这两个等位基因就被称为共显性。

两个基因还是一个基因

如果两个突变的表型相同，那么我们将如何区分这两个突变是不是在同一个基因上呢？如果突变是隐性的（绝大多数是这种情况），那么就可以通过互补实验来确定。

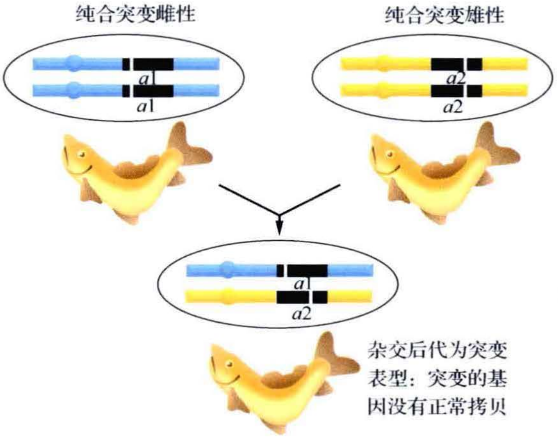
在这个最简单的互补实验中，一个基因突变的纯合子与另一个基因突变的纯合子交配。子代的表型就可以说明二者是不是在同一个基因上。

互补：突变位于两个不同基因上



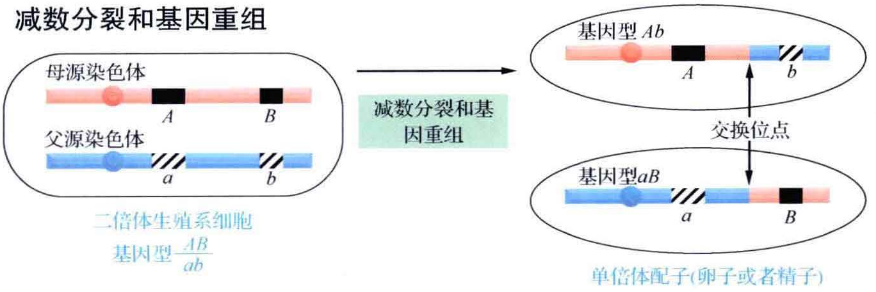
杂交的后代表型正常：每个基因都有一份正常拷贝

不互补：两个突变位于同一个基因上



杂交后代为突变表型：突变的基因没有正常拷贝

减数分裂和基因重组



二倍体生殖系细胞

基因型 $\frac{AB}{ab}$

单倍体配子(卵子或者精子)

在同一条染色体上，两个位点的距离越大，被二者之间区域发生的交换所分离的概率越大。如果两个基因在 *x*% 的配子中重新组合，那么二者在染色体上的遗传图谱距离为*x*个图距(或者xcM)。

- 有性生殖包括二倍体和单倍体的循环更替：二倍体细胞通过减数分裂形成单倍体配子，两个个体的单倍体配子在受精时融合而形成新的二倍体细胞。
- 减数分裂时，一个二倍体细胞的母源和父源的染色体被打包分配到配子中，使每个配子的染色体只得到一份拷贝。因为每对染色体的两个拷贝在分配时是随机的，所以每个个体可以产生多种遗传上不同的配子。
- 交换保证了同源染色体的正确分离，并且通过减数分裂期的母源和父源染色体遗传物质的互换增强了基因的重组。
- 尽管减数分裂与有丝分裂的大部分力学特点相似，但是染色体的行为却不同：减数分裂通过两次连续的细胞分裂产生四种遗传上不同的单倍体细胞，而有丝分裂只是一次细胞分裂并且产生的是两个遗传上相同的二倍体细胞。
- 孟德尔通过研究豌豆中多个分离的性状，揭示了遗传的法则。
- 孟德尔的分离定律指出在配子形成时，决定性状的母源和父源的等位基因相互分离，并在受精时随机地组合在一起。
- 孟德尔的自由组合定律指出在配子形成时，不同的等位基因间相互独立地分离。
- 减数分裂时染色体的行为解释了孟德尔法则。
- 如果两个基因在同一条染色体上相邻比较近，那么它们倾向于作为一个单位遗传。它们之间的重组频率可以用于构建遗传图谱，显示基因在染色体上的位置。
- 突变的等位基因或为显性或为隐性。如果杂合子的表型是突变型，那么该突变的等位基因是显性的；而如果是正常表型，这个突变的等位基因则是隐性的。
- 互补实验可以区分产生相同表型的两个突变是否在同一个基因上。
- 突变的个体可以用破坏 DNA 的化学试剂对其处理而产生。具有令人感兴趣的表型的突变体被筛选出来，最终用于克隆导致该突变表型的基因。
- 除了同卵双生的个体，没有两个人的基因组是相同的。我们每个人都具有一组独特的多态性序列（核苷酸序列的变异），而正是这些多态性序列让我们每个人变得不同。
- 多态性位点是基因组序列中具有高度变异的位点，在人群中随机抽出两个个体，这些位点不同的概率都会很高。
- 单碱基多态性（SNP）是单个碱基变异的多态现象，指在人群范围内基因组中某个位点普遍存在两个或两个以上的变异。SNP 是遗传作图重要的遗传标记。
- 人类 SNP 倾向于以大的单倍体域的方式进行遗传，这些单倍体域是基因组中完整的从祖先传递下来并且没有被重组破坏的序列。单倍体域的大小为我们了解自身的进化历史提供了线索。

关键词

SNP（单碱基多态性）	分离定律	减数分裂	受精作用	遗传学
表型	复杂性状	交换	体细胞	有性繁殖
纯合子	功能获得性突变	姐妹染色单体	同源染色体	杂合子
单倍型域	功能缺失性突变	配对	同源物	重组
等位基因	合子	配子	无性繁殖	自由组合定律
多态性	互补检测	染色体交叉点	性染色体	
二倍体	基因型	生殖系单倍体	遗传筛查	
二价染色体	家系	生殖系细胞	遗传图谱	

问题

问题 19-1 为什么生物体不在体细胞正常有丝分裂时采用减数分裂最初的一些步骤，包括前期到第一次减数分裂结束？

问题 19-2 如果不考虑染色体的交换，原则上每个人可以产生 $2^{23}=8.4\times10^6$ 个遗传上不同的配子。在人类的平均寿命情况下，女人(A)和男人(B)中会有多少种可能的配子会成为现实呢？

问题 19-3 假设每条染色体在一次减数分裂时只在染色单体间发生一次交换。比较由位于同一条染色体两端的基因和位于两条染色体上的基因所决定的性状的共遗传的情况。而在真实情况下又是如何呢？

问题 19-4 当来自两个相互分离的不同亚群中的个体相遇并且交配，它们的子代通常表现出“杂交优势”：比其亲代更强壮、健康，而且生育力强。你如何来解释这种现象？

问题 19-5 在最近的一次自动化的检测中，以年龄为分组的 DNA 样本中，分析了上千种的 SNP。其中的绝大多数随着人们年龄的增长，不同变异的相对频率没有变化。但是，罕见的是，某一位点上的变异的频率在超过 50 岁的人群中进行性地减少。下面哪种解释最有可能发生：A 该位点 SNP 的核酸不稳定，随着年龄增长而突变；B 这些 50 年前出生的人来自一个易于丢失该 SNP 的种群；C 该 SNP 变异改变了某一重要的基因产物，从而缩短了人类寿命；或者与具有这种作用的某一相邻等位基因连锁。

问题 19-6 要理解细菌中的缺失性突变通过自然选择就可以被消除掉，相对来说是比较容易的，因为细菌中的每个基因只有一份拷贝，缺失性突变会导致受累细菌死亡，从而将突变从群体中消除掉。然而，真核生物的大多数基因都有两份拷贝，也就是它们是二倍体。通常，具有两份正常拷贝的个体(正常纯合子)的表型与具有一份正常拷贝和一份缺陷型拷贝的个体(杂合子)的表型没有差别。在这种情况下，自然选择只会对含有两份缺陷型拷贝的个体(纯合缺陷)起作用。假设某个基因的纯合缺陷是致死的，但是在杂合情况下却是正常的。该突变能不能被自然选择从种群中消除掉？为什么？

问题 19-7 下面哪些描述是正确的，为什么？

A. 动物的卵子和精子含有单倍体基因组。

B. 减数分裂时，染色体被分配，从而使每个生殖系细胞含有且仅含有每条染色体的一份拷贝。

C. 发生在减数分裂期的突变不会传递到下一代中去。

问题 19-8 什么会导致染色体不分离，也就是同一条染色体的两份拷贝进入到同一个子代细胞中？在有丝分裂(a)和减数分裂(b)时发生这样的情况分别会产生什么样的结果？

问题 19-9 为什么第一次减数分裂时姐妹染色单体必须保持配对？答案会不会对你洗袜子的策略有所启发？

问题 19-10 区分以下词组

A. 基因和等位基因　　B. 纯合子和杂合子

C. 基因型和表型　　D. 显性和隐性

问题 19-11 假设给你 3 个皱缩的豌豆 A、B、C，种植后可以产生成熟的豌豆植株。这 3 株豌豆自花授粉后只产生皱缩的种子。

A. 假设已知豌豆的皱缩表型是隐性的，是由一种功能缺失性突变造成的，你能不能说出每株豌豆的基因型？

B. 你能不能确定这 3 株植物在同一个基因上均带有突变？

C. 如果不能，你如何排除这样的可能性，即每一植株分别在不同基因上带有一个突变，而这些突变均产生皱缩的表型？

问题 19-12 苏珊的祖父耳聋，在其家族中耳聋的传递方式如图 Q19-12 所示。

A. 该突变最有可能是显性还是隐性？

B. 该突变位于常染色体上还是性染色体上？为什么？

C. 对 11 个孙子女(4 个患病，7 个正常)进行全序列 SNP 分析。比较这 11 个 SNP 结果时，你预期在关键基因周围的单倍型域是多大？你如何检测到它？

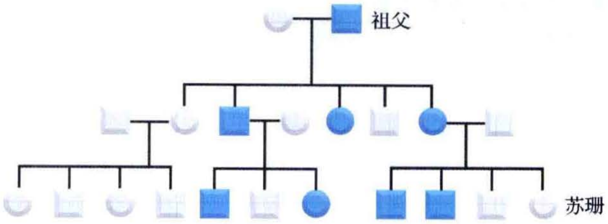


图 Q19-12

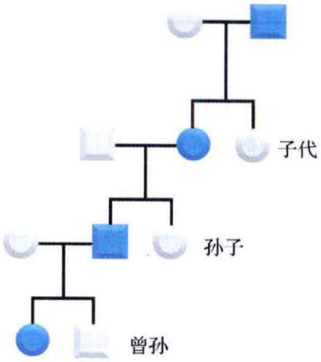


图 Q19-14

问题 19-13 假设图 19-22 所示的致聋突变非常罕见，那么在第二代中的 4 个孩子最有可能的表型是什么？

问题 19-14 如家系图 Q19-14，所有三代中仅第一个出生的孩子患有显性遗传病 D。你的朋友推断第一个出生的孩子比后出生的孩子遗传到突变的 D 等位基因的概率大。

A. 根据孟德尔法则，这种推断有理吗？

B. 随机得到这样一个结果的可能性为多大？

C. 为了验证你朋友的推测，应该还需要什么样的证据？

D. 在什么情况下，你朋友的假设可能是正确的？

问题 19-15 假设 100 个人中有 1 个是隐性突变的携带者，具有该纯合突变的婴儿出生后即死亡。在某种群中，每年出生 100 万人，那么每年会有多少婴儿含有该纯合致死突变？

问题 19-16 有些突变被称为显性负性突变。你认为该突变是什么意思，它又是如何起作用的？比较显性负性突变和功能获得性突变。

问题 19-17 讨论“如果不是胰岛素的缺失与人类众人皆知的糖尿病有关，我们今天不会知道胰岛素作为一种条件性激素的重要性。正是其缺失后导致的严重后果，使我们花力气去了解胰岛素并研究其在生理学中的作用”。

问题 19-18 早期在果蝇中的遗传学研究为我们现在了解基因建立了重要的基础。果蝇遗传学家诱导产生了很多易于观察的表型的突变。对果蝇眼睛正常砖红色改造果蝇正常的砖红色眼睛具有一段令人尊敬的历史，因为 Thomas Hunt Morgan 发现的第一个空变正是一只白眼的果蝇，(图 Q19-18)。从这以后，大量的具有中间色的突变体被分离出来，这些色彩足以挑战你的色觉：石榴红、宝石红色、朱红色、樱桃红、珊瑚红、杏黄色、浅黄色和淡红色。这些突变均为隐性。为了确定这些突变是否在同一个基因上，每种突变的纯合果蝇互相配对，它们子代的眼睛颜色被记录下来。在表 Q19-18 中，＋和－表示最上面一行的果蝇与最左边一栏的果蝇交配后产生子代果蝇的表型；野生型的砖红色表示为＋，其他颜色表示为－。

A. 具有两种不同颜色眼睛的果蝇，如宝石红色和白色，是如何产生砖红色野生型子代的？

B. 哪些突变是在同一个基因上，哪些突变是在不同基因上？

C. 同一基因的不同等位基因是如何决定眼睛的不同颜色的？

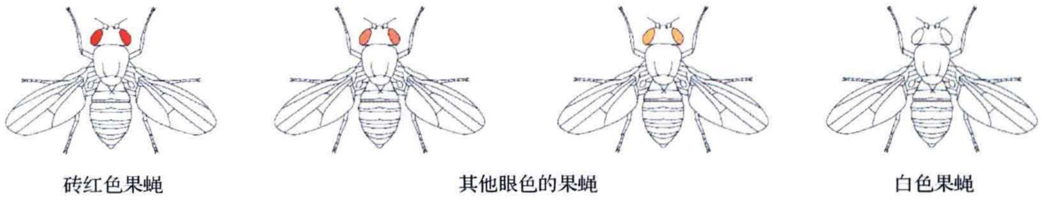


图 Q19-18

表 Q19-18　果蝇眼色突变的互补分析

分析	白色	石榴红	宝石红色	朱红色	樱桃红	珊瑚红	杏黄色	浅黄色	淡红色
白色	−	+	+	+	−	−	−	−	+
石榴红		−	+	+	+	+	+	+	+
宝石红色			−	+	+	+	+	+	+
朱红色				−	−	−	−	+	
樱桃红					−	−	−	−	+
珊瑚红						−	−	−	+
杏黄色							−	−	+
浅黄色								−	+
淡红色									−

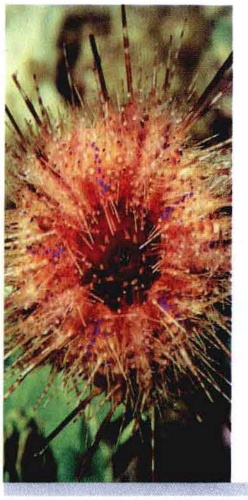
＋表示所示的眼色的个体杂交的子代在表型上是正常的；

－表示子代的眼色是不正常的。

问题 19-19　什么是单碱基多态性(SNP)，在连锁分析中如何用它们来定位一个突变的基因？

问题 19-20　Tim 和 John 曾将他们自己的整个基因组进行测序。他们序列中的 300 万个位点有单碱基的差别。为什么这其中很多位点不能作为遗传作图实验中的标记？用什么实验可以区分出这些位点有用还是无用的？

（石　岩　译）



20

20.1 胞外基质与结缔组织
20.2 上皮层和胞间连接
20.3 组织的维持和更新
20.4 癌症

细胞群落：组织、干细胞和癌

细胞是多细胞生物体的结构单元。这看似简单的一句定义，却可以引起诸多深入的思考。细胞并不像砖块，因为细胞是那么小而脆弱，它们如何能组成一头长颈鹿或者一棵巨大的红杉树呢？每一个细胞都被一层小于十万分之一毫米厚的纤弱的细胞质膜所包被，细胞的存亡依赖于这层质膜的完整性。那么细胞是如何坚实地整合在一起形成可以撑起大象体重的肌肉的呢？最为神奇的是，如果细胞是生物体这个"建筑"的结构单元，那么谁是建设者，设计师的蓝图又在哪里呢？各种不同类型的细胞是如何在一棵植物或一个动物体内产生并且恰当地处于复杂结构的特定位置的呢(图 20-1)？

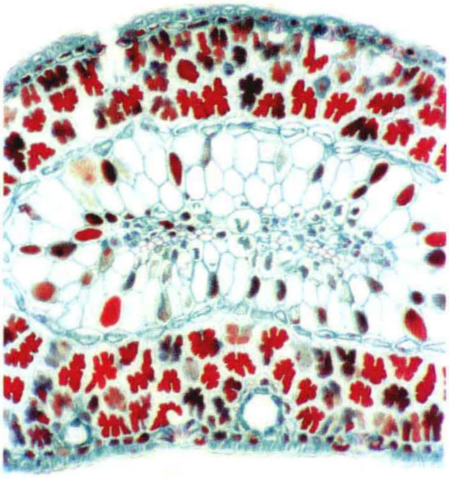


图 20-1 有组织的细胞群组成多细胞生物体。一片松树叶子(松针)经染色的横切面，显示各种细胞的精确的组织方式。

多细胞生物中的大部分细胞被编组形成协同的集群，称为**组织**，如脊椎动物中的神经、肌肉、上皮以及结缔组织(图 20-2)。这一章我们首先从力学的观点出发来讨论组织的结构。我们会看到组织不仅仅由细胞以及细胞骨架纤维的内在框架(第 17 章)组成，同时也包括细胞向周围所分泌的**胞外基质**，正是这些基质给予骨头或木头这样的支撑组织以力量。基质是细胞相互连接的一个途径，同时细胞之间也可以直接相连。接着，我们还将讨论细胞连接，在动物的柔韧可活动的组织中，细胞连接将细胞连在一起，把力从一个细胞的细胞骨架传到下一个细胞的细胞骨架，或是从一个细胞的细胞骨架传到胞外基质。

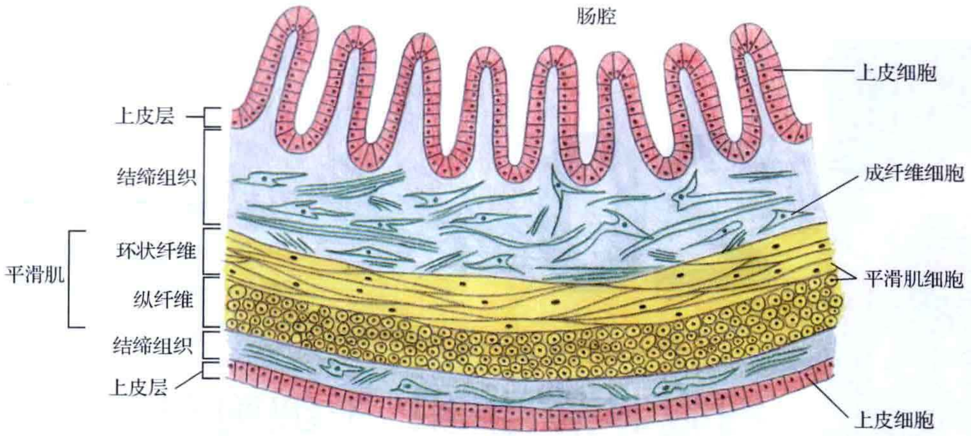


图 20-2 细胞构成组织。哺乳动物小肠壁部分横切片简图。这一长管状的器官由上皮组织(红色)、结缔组织(绿色)和肌肉组织(黄色)构成。每一种组织都是细胞通过细胞间或细胞与胞外基质间或两者兼有的方式黏连结合起来的。

但是形成组织不仅仅与力学有关。就像建造一幢大楼还需要管道、电话线和其他装置一样,动物组织同样需要血管、神经以及其他由各种各样特化细胞组成的组分。所有这些组分必须准确协调,许多组分必须保持和更新。当一些细胞死亡后,必须有另一些正确类型、正确数量的新细胞在正确的位置替代它们。在本章的第三部分,我们将讨论这些过程如何被调控,以及能够自我更新保持未分化细胞的*干细胞*在组织更新和修复中的关键作用。

组织更新失调是一个重要的医学问题,而突变细胞的反常行为是癌变的主要原因,这也是本章最后一部分将要讨论的内容。开展癌症研究要求研究者具备从细胞到组织的不同层面综合的知识;从 DNA 修复的分子生物学到自然选择学说以及组织内部细胞的社会性结构。癌症研究已经带动细胞生物学上的许多重大进步,我们也看到,基础研究的成果使我们深入了解疾病,创造出新的优化的治疗方案。

20.1 胞外基质与结缔组织

植物和动物已经分别进化出它们的多细胞个体,它们的组织也以不同的原理构建起来。动物一方面以捕猎其他生命体为生,另一方面它也是其他一些动物的猎物,因此它们必须强壮而敏捷:它们身体的组织必须能够快速运动,组成这些组织的细胞必须能够产生和传递力量,迅速改变形状。相反,植物是静止的,它们的组织相对来说较坚硬,它们的细胞一旦从组织的支撑框架中分离出来就比较脆弱。

植物组织的强度来自它的**细胞壁**,细胞壁像一个盒子,包容着各自的细胞,保护细胞,并且使细胞具有一定的形状(图 20-3)。细胞壁是一种植物细胞向周围分泌的胞外基质。细胞控制细胞壁的组分:在木头中它又厚又硬,而在树叶中细胞壁则又薄又富有弹性。但是在这两种情况中,组织的形成原理是一样的:许多小小的盒子被黏合在一起,每个盒子中都有一个精巧的细胞。实际上,正如我们在第 1 章中提到的,正是这种 300 年前罗伯特 · 虎克在一小片软木中看到过的显微小室的密集堆积物,才产生了“细胞”这一名词。

动物组织相较于植物则显得更多样化。它们如同植物组织那样由细胞和胞外基质组成,但这些组分以各种不同的方式被组织起来。在有些组织如骨和肌腱中,胞外基质很丰富且在力学上非常重要;而在肌肉或表皮组织中,胞外基质含量很少,力学负荷由组织中细胞的细胞骨架承担。我们下面先简要讨论一下植物的细胞和组织,然后再讨论动物。

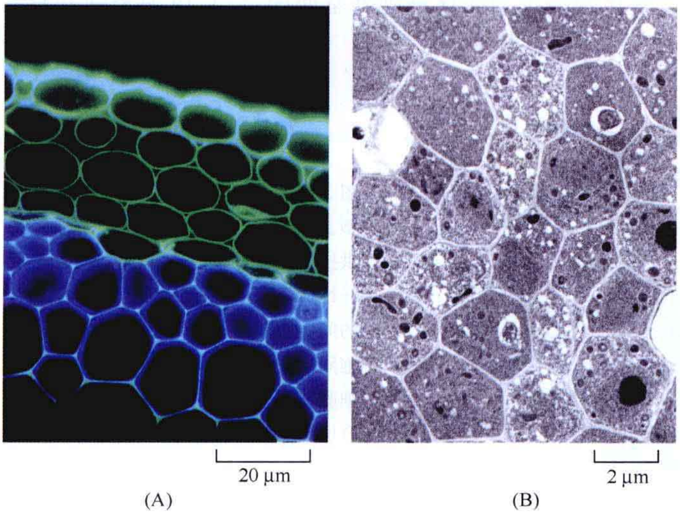


图 20-3　植物细胞的细胞壁使植物组织坚固。(A) 开花植物拟南芥茎的部分横切面。荧光染色显示细胞壁的两种组分——蓝色的是纤维素，绿色的是多糖(果胶)。细胞本身未被染色因而这里是看不见的。同时富含纤维素和果胶的地方显示为白色。茎的外层细胞含丰富的果胶，茎的外层细胞只有初生细胞壁(细胞壁还在随着细胞生长沉积)。纤维素在茎的内侧细胞层更丰富，有较厚的坚硬的次生细胞壁(细胞停止生长沉积起来的)；(B) 同一植物根的新生细胞的电子显微镜照片，细胞与细胞壁都能清楚地看到。(蒙 Paul Linstead 惠许)

20.1.1　植物细胞具有坚韧的细胞外壁

人工去除植物细胞的细胞壁可以得到裸露的植物细胞，它非常脆弱。如果十分小心的话，可以在体外培养它，但它很容易破碎。培养基中小小的渗透压的失调都会导致它膨胀以致破裂。它的细胞骨架中缺乏像动物细胞中那样承受张力的中间丝，因此它根本就没有抗拉强度。所以，外周的细胞壁是必需的。

植物的细胞壁必须是坚韧的，但不一定是坚硬的。细胞的渗透性膨胀虽然受到细胞壁的限制，但仍足以使这一小室饱满。许多这样饱满的小室黏合在一起，形成了半坚硬的组织(图 20-4)。脆嫩的莴苣叶子就是一例：一旦失水，细胞收缩，叶子也就萎蔫了。

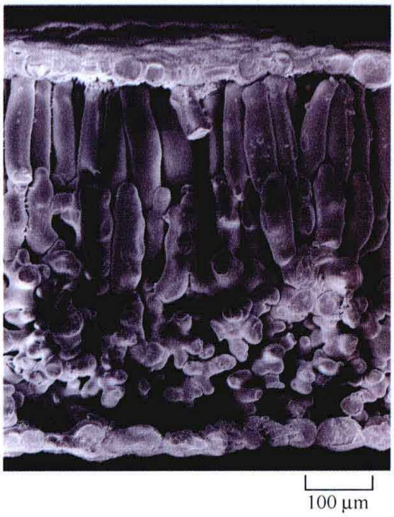


图 20-4　褶皱的莴苣叶子扫描电子显微镜照片。由于渗透压而充水膨胀的细胞通过细胞壁黏合在一起。(蒙 K. Findlay 惠许)

在多细胞植物中，大部分新形成的细胞产生较薄的*初生细胞壁*，它可以慢慢地扩张，以便容纳下逐步生长的细胞。这一生长的动力和使得莴苣脆嫩的动力是一样的——膨胀压，或称为膨压，是由于细胞内外渗透压不平衡所产生的(见第 12 章)。一旦生长停止，细胞壁不需要再扩张，这时通过增厚初生细胞壁或是沉积一层新的其他组分到旧的细胞壁下面，一个更为坚硬的*次生细胞壁*就产生了。植物细胞特化后，它通常会产生有专门适应性的细胞壁：蜡质、防水的叶表皮细胞的细胞壁，茎的木质部细胞的厚而坚韧、木质的壁，等等。

20.1.2　纤维素纤维使植物细胞具有抗拉强度

就像所有的胞外基质一样，植物细胞壁的抗拉强度由长纤维决定，这些长纤维的取向沿着受力方向。在高等植物中，这些长纤维基本上由一种称为**纤维素**的多糖形成。纤维素是地球上最为丰富的有机大分子。这些纤维素纤维与其他多糖分子以及结构蛋白质互相交织着，全部结合在一起，形成一个复杂的结构，抵抗压力和拉力(图 20-5)。在木质组织中，还有一种**木质素**

(一种非多糖非蛋白质聚合物)的高度交联化网络沉积在这种胞外基质中,使它更为坚硬并具有防水性。

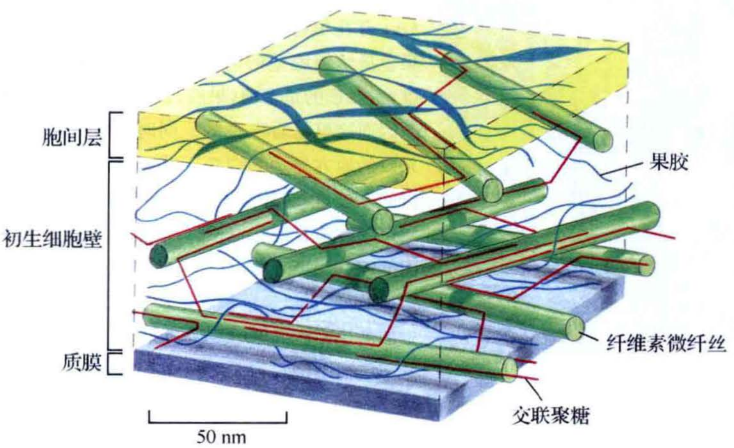


图 20-5 部分初生细胞壁的放大模型。绿色的杠表示纤维素原纤维,提供抗拉强度;其他多糖交联纤维素原纤维(红色条带),果胶填充它们之间的间隙(蓝色条带),从而抵抗压力。胞间层(黄色标识)富含果胶,是把一细胞壁与另一细胞壁黏合在一起的黏合层。

植物细胞的细胞壁必须伸长或变形以适应植物的生长或改变形状。因为纤维素纤维是抗拉伸的,它的排列方向控制着生长中的细胞增大的方向:例如,如果纤维素纤维像紧身衣一样环绕着细胞排列,那么细胞在长度方向就会比围长方向生长得快(图 20-6)。植物细胞就是这样通过构造细胞壁的方式,进而控制它自己的形状以及它所在的那片组织的生长方向。

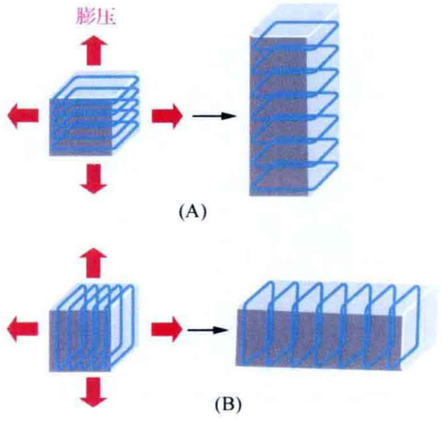


图 20-6 细胞壁中纤维素微纤丝的排列方向影响细胞增大的方向。在(A)和(B)中,细胞以相同的形状开始生长(在这里是一个正方体),但在它们细胞壁中纤维素微纤丝的排列方向是不一样的。尽管在所有方向上膨压是均等的,但每个细胞倾向于在与微纤丝取向的垂直方向上伸张,而这些微纤丝是具有巨大抗拉强度的。一个器官,如枝条,其最终形状就由其中那些细胞的扩张方向所决定。

纤维素的产生方式与其他胞外大分子的产生方式很不一样。它不是在细胞内合成然后通过胞吐的方式运出细胞(在第 15 章讨论),而是由包埋在细胞质膜中的酶复合物在细胞的外表面合成的。酶复合物把糖单体转运过膜,然后把单体添加到一组生长中的多糖链的附着在细胞质膜上的一端。每一条链形成一条纤维素微纤丝。这些酶复合物在膜上移动,产生新的聚合物并在它们后面铺设下一系列定向的纤维素纤维。

酶复合物在膜上移动留下的路径确定纤维素在细胞壁中沉积的取向。但是谁在指引酶复合物的运动呢?原来就在细胞质膜的下面,微管的排列与胞外纤维素微纤维完全一致(图 20-7A,B)。这些微管被认为是酶复合物移动的轨道(图 20-7C)。细胞骨架正是以这种奇妙的非直接方式控制植物细胞的形状与植物组织的造型。我们在下面将会看到动物细胞以一种更为直接的方式利用细胞骨架来控制组织的结构。

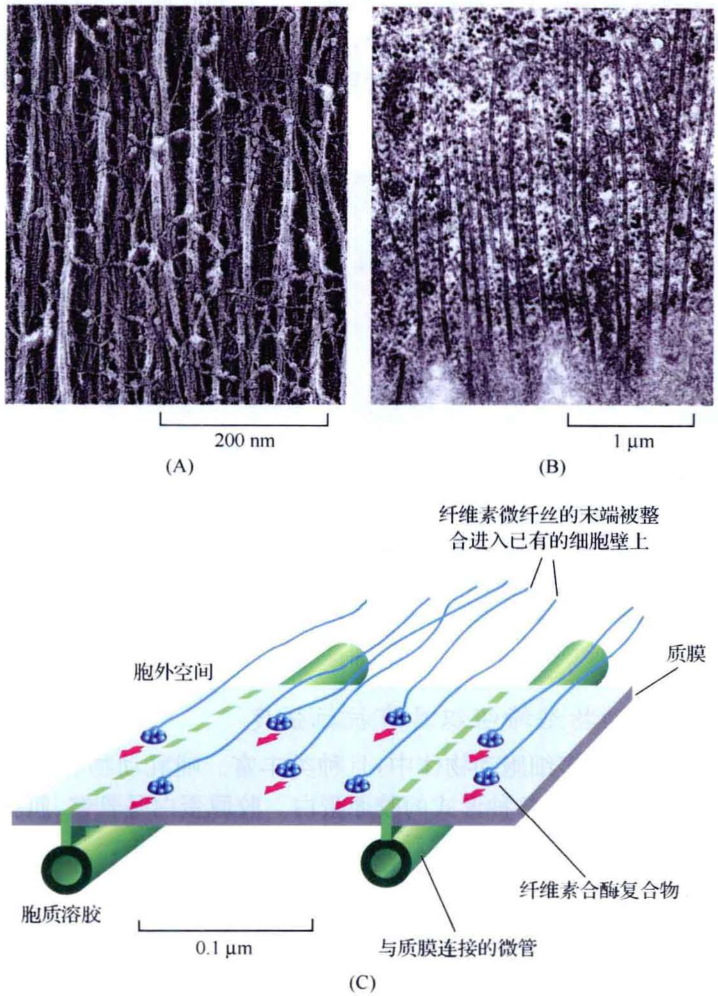


图 20-7 微管指挥植物细胞壁中纤维素的沉积。(A) 电子显微镜下植物细胞壁中定向的纤维素纤维;(B) 植物细胞质膜下微管的定向排列;(C) 胞内微管的排列方向决定新沉积的胞外纤维素纤维排列方向的模型。纤维素合成酶复合物是膜内在蛋白质,它不断地在质膜的外表面合成纤维素原纤维。僵硬的纤维素微纤丝远端很快就整合到细胞壁的纹理中,而在其另一端由于不断延伸而推动这种合成酶复合物沿膜平面移动。由于微管的皮层系统与质膜连接,其连接方式把酶复合物限制在确定的膜轨道上,从而微管的取向决定原纤维铺设的方向。(A 蒙 Brian Wells 和 Keith Roberts 惠许,B 蒙 Brian Gunning 惠许)

20.1.3 动物的结缔组织主要由胞外基质组成

传统上动物组织可以划分为四大类:结缔组织、上皮组织、神经组织和肌肉组织。而结缔组织与其他三者之间有结构上的区别。**结缔组织**中有异常丰富的胞外基质承载着力学荷载。其他组织如上皮组织中,胞外基质很少,各细胞间直接相连并承受力学荷载。我们首先来看结缔组织。

动物的结缔组织可谓千差万别。有的强健而柔韧,如肌腱和皮肤的真皮层;有的坚硬而致密,如骨骼;有的富弹性且有减震功能,如软骨;还有的柔软又透明,就像充满眼球的胶质。在所有这些例子中,组织的大部分空间被胞外基质占据,分泌基质的细胞就像布丁里面的葡萄干一样散布其中(图 20-8)。这些组织中,抗拉强度——无论大小——主要由一种叫做胶原的纤维蛋

白提供，而不是像植物细胞那样由多糖提供。根据所含有的胶原蛋白类型和含量的不同，尤其是交织在其中的其他分子的种类和比例的差异，不同的结缔组织具有不同的特性。这种情况包括我们即将要讨论的使血流流过时的动脉血管壁具有弹性的弹力蛋白，以及其他许多特化的多糖分子等，我们在下面都会讨论。

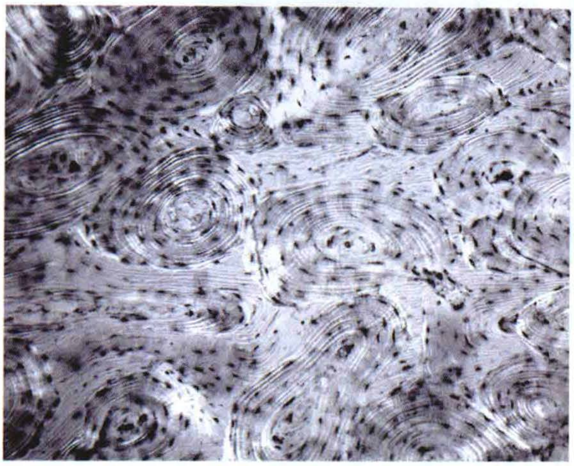


图 20-8 骨等结缔组织中的胞外基质异常丰富。在骨的横切面图中，形状小、颜色深、如蚂蚁样的细胞埋在骨基质中，骨基质占据了骨组织的大部分体积，并为组织提供机械强度。交替的深、浅色条带是含有定向排列的胶原蛋白的基质层（由于用了偏振光因此可以看见）。磷酸钙晶体充填在胶原原纤维之间的间隙里，使得骨基质既能抗压力又能抗拉力，像加固的钢筋混凝土。

20.1.4 胶原蛋白使动物结缔组织具有抗拉强度

胶原蛋白存在于所有的多细胞动物体中，且种类丰富。哺乳动物有大约 20 种不同的胶原蛋白基因，编码不同组织所需的各种形式的胶原蛋白。胶原蛋白是骨骼、肌腱和皮肤（皮革是泡腌过的胶原蛋白）组织中的主要蛋白，占动物体内蛋白质重量的 25%，多于其他任何一种蛋白质。

典型胶原蛋白分子的特点是长而坚挺的三股螺旋结构。三条胶原蛋白多肽链彼此缠绕成像绳子一样的超螺旋（图 4-25A）。这些超螺旋分子依次组合成有序的聚合体，称为胶原纤维，它们是直径 10～300 nm，长几微米的细条，能进一步聚集成更粗的胶原纤维（图 20-9）。其他胶原蛋白分子则修饰胶原纤维的表面，把胶原纤维相互连接或是与胞外基质中的其他组分连接。

产生胞外基质并位于其中的结缔组织细胞的名称因所在组织的不同而各异：在皮肤、肌腱和许多其他结缔组织中，它们被称为**成纤维细胞**（图 20-10）；在骨骼中，它们被称为*成骨细胞*。它们产生胶原蛋白和基质的其他有机成分。几乎所有这些分子都在细胞内合成，然后以标准的形式——胞吐（第 15 章），释放出去。在细胞外，它们组合成体积较大的、相互黏合的聚集体。若这些分子过早地在细胞分泌之前组合，则细胞会灾难性地被自身的产物堵塞。以胶原蛋白为例，细胞通过分泌胶原蛋白前体即前胶原的方式避免这种灾难。前胶原在分子两端各带有一段额外的肽段，阻碍它形成胶原原纤维。一种胞外酶——胶原酶——将其末端区域切去，使这种分子只有被释放入胞外空间才可被组装起来。

某些患有某种胶原酶或前胶原遗传缺陷的患者，他们的胶原原纤维不能正常装配，结果，他们的皮肤和其他多种结缔组织抗拉强度降低，呈现异常的可拉伸性（图 20-11）。

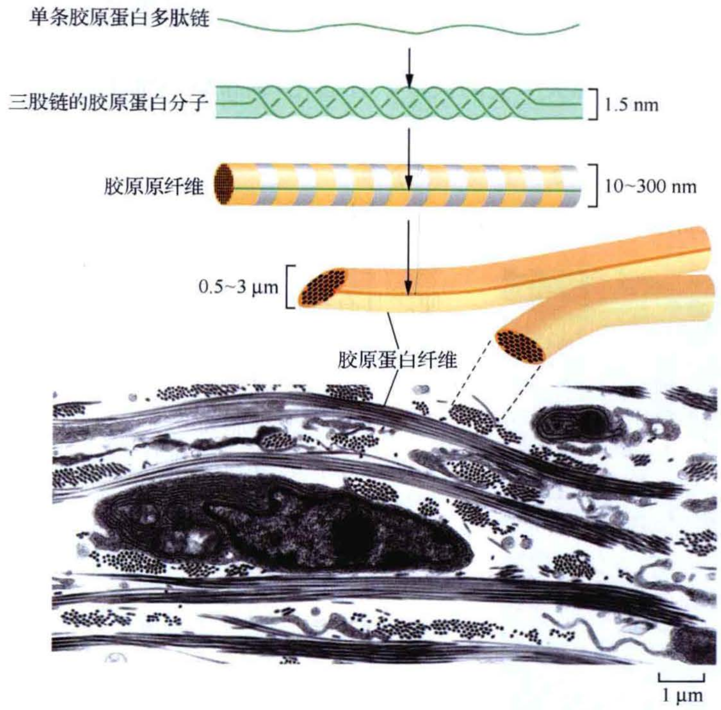


图 20-9 胶原纤维组织成束。此图展现了胶原组装的步骤，从多肽链到三股缠绕的胶原分子，再组装成原纤维，进一步形成胶原纤维。电子显微镜照片显示鸡胚皮肤结缔组织中的胶原原纤维。这种原纤维形成束，有些与切片的平面平行，有些几乎成直角。照片中的细胞是成纤维细胞，它分泌胶原蛋白以及其他胞外基质组分。（照片引自 C. Ploetz et al., *J. Struct. Biol.*, 106:73-81, 1991）

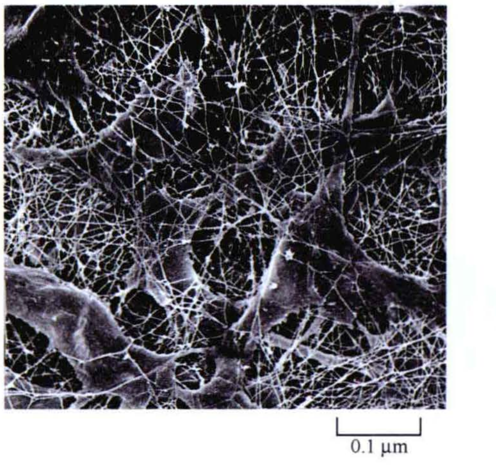


图 20-10 结缔组织中成纤维细胞分泌胞外基质。扫描电子显微镜显示大鼠角膜组织的成纤维细胞和胶原。另外一些通常形成水化凝胶的成分填充着胶原原纤维之间的间隙，这些成分在这里已用酶和酸处理除去。（引自 T. Nishida, et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 29:1887-1890, 1988）

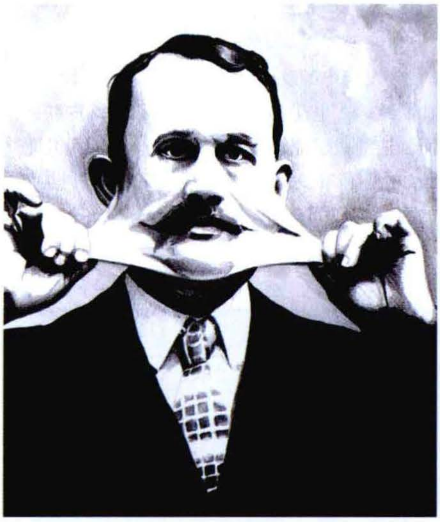


图 20-11 胶原分子组装错误能导致可过度拉伸的皮肤。"弹性皮肤人"James Morris，摄于 1890 年左右。异常可拉伸的皮肤是一种遗传综合征的一部分，由于胶原蛋白组装或交联中的缺陷所导致。在某些个体中是由于缺乏胶原酶而引起的，胶原酶将前胶原转化成胶原蛋白。

组织内的细胞不但产生基质，而且也必须能够降解基质。降解基质的能力对组织的生长、修复和更新非常重要；对一些迁移细胞，如需要穿越胶原蛋白和其他胞外基质聚合体的巨噬细胞来说也必不可少。从导致患关节炎的关节软骨退化，到帮助癌细胞侵蚀正常细胞，这些分解胞外蛋白的基质蛋白酶在多种疾病发生中起着关键的作用。

20.1.5 细胞分泌胶原蛋白并组织其分布

为行使功能，胶原蛋白原纤维必须正确地排列。例如，在皮肤中，它们或者像编柳条篮似地编织起来，或者由不同排列方向的数层纤维交互重叠，使之具有抗衡来自不同方向的拉力的本领（图 20-12）；在肌腱（使肌肉附着在骨头上）中，它们沿着张力主轴方向平行排列成束。

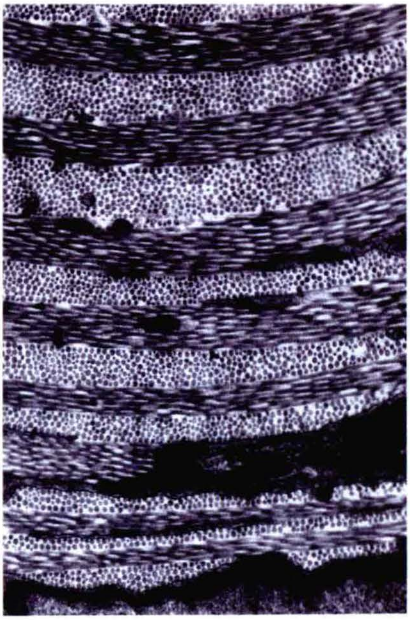


图 20-12 皮肤中的胶原蛋白原纤维排列成木纹一样的片层结构。电子显微镜照片显示蝌蚪皮肤的横切面。连续数层原纤维重叠在一起，相互间几乎呈直角（亦见图 20-9）。在成熟的骨和角膜中也有这样的配置。（蒙 Jerome Gross 惠许）

结缔组织细胞部分通过定向地沉积胶原蛋白，部分通过随后的重新安排从而控制这种取向。在组织发育的过程中，成纤维细胞在它们所分泌的胶原蛋白上行使功能：在其上爬行，也拉动这些纤维，使之致密成层并将其拉出成索。细胞培养实验生动地显示了成纤维细胞在胶原蛋白基质成型中的力学方面的作用。当把成纤维细胞与在培养中形成凝胶的随机取向的胶原原纤维网络混合时，成纤维细胞在网络上用力拉，拖动其周围的胶原蛋白并使其致密成形。如将两片带有成纤维细胞的胚胎组织放在胶原蛋白凝胶上，使之间隔一定距离，那么这两者之间的胶原蛋白就会被编组排列形成一条致密的条带，连接这两个外植块（图 20-13）。成纤维细胞沿着排好的胶原蛋白纤维从外植块中迁移出来，因此成纤维细胞影响了胶原蛋白纤维的排列，而后者又反过来影响成纤维细胞的分布。在体内，在胞外基质变得有序的过程中，成纤维细胞可能起着相似的作用，例如，帮助形成肌腱，以及形成包被并连接大部分器官的坚韧、致密的结缔组织层。成纤维细胞迁移在创伤治疗中也很重要（视频 20.1）。

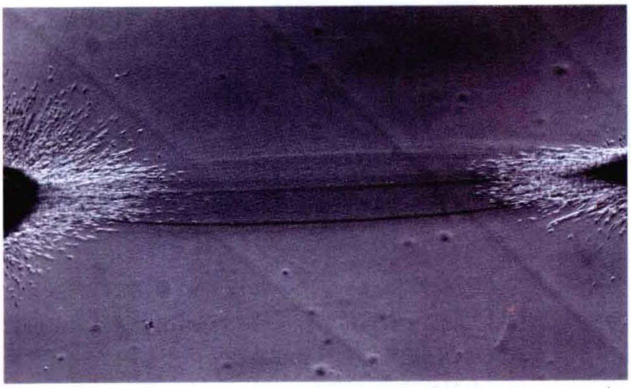


图 20-13 成纤维细胞影响胶原纤维的排列。这张照片显示在胶原蛋白凝胶上培养了 4 天的 2 片鸡胚胎心组织（富含成纤维细胞和心肌细胞）。在 2 片外植块之间，已经密集而对准排好的胶原蛋白纤维束，可能是组织中的成纤维细胞拖动胶原蛋白的结果。该培养皿的其他地方的胶原蛋白还处于紊乱无序的排列，因而统一呈灰色。（引自 D. Stopak 和 A. K. Harris. *Dev. Biol.* 90:383-398，1982. 经 Elsevier 同意）

20.1.6 整联蛋白使细胞外的基质与细胞内的细胞骨架偶合

如果细胞能拖动基质，并在其上爬行，那么它肯定必须能附着于基质。细胞并不能很好地附着于单纯的胶原蛋白上。另外一个胞外基质组分——**纤连蛋白**在这两者之间建立联系：纤连蛋白分子的一部分结合在胶原蛋白上，而另一部分则成为细胞的一个附着部位（图 20-14A）。

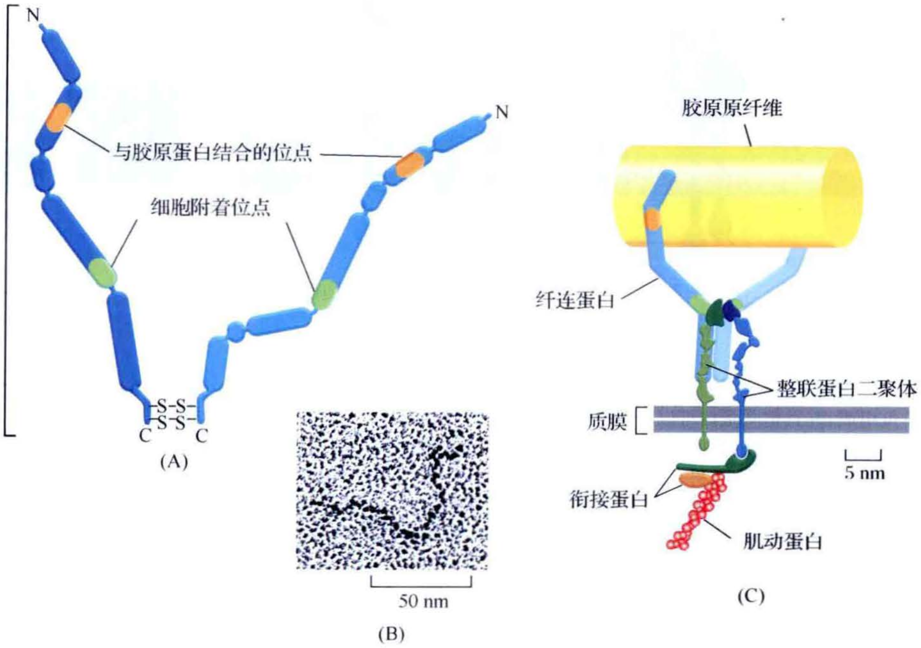


图 20-14 纤连蛋白和整联蛋白分子连接细胞和胞外基质。细胞外的纤连蛋白分子和胶原原纤维结合。细胞质膜上的整联蛋白与纤连蛋白结合并将其与胞内细胞骨架栓系。（A）示意图和（B）纤连蛋白分子电子显微镜照片。（C）整联蛋白分子介导的跨膜连接（蓝色和绿色二聚体）。整联蛋白分子将张力传递过质膜。在胞内它锚着于细胞骨架，而在胞外它通过纤连蛋白与胞外基质相连。这样细胞质膜本身可以不必很结实。这里显示的整联蛋白连接纤连蛋白和胞内肌动蛋白丝，其他整联蛋白把不同的胞外基质和细胞骨架（一般是肌动蛋白丝，也可能是中间丝）连接起来。（B 引自 J. Engel et al., *J. Mol. Biol.* 150:97-120, 1981. 经 Elsevier 同意）

细胞用一种称为**整联蛋白**的跨细胞质膜受体蛋白结合到纤连蛋白中的特定部位上。当整联蛋白的胞外域与纤连蛋白结合时，其胞内区域通过一套调节分子与肌动蛋白丝结合（图 20-14C）。正由于这种锚定，当细胞与基质之间有张力时，整联蛋白分子将受力作用从基质传送到细胞骨架，使它本身不至于被拽出脆弱的脂质双层质膜。

整联蛋白不仅仅被动地传递力：它们也对力以及来自细胞内外的指示它们与其他分子保持或中断连接的化学信号做出反应。据此整联蛋白与其他分子建立连接或断开连接。比如当一个细胞经过某一组织时，细胞上的整联蛋白抓住基质的前端，松开背后的连接，以此迁移前进（图 17-32）。

整联蛋白通过显著的构象改变来行使功能。其位于质膜一侧的部位与某一个分子结合，这时整个整联蛋白处于伸长的、活化的状态，因而质膜另一侧的部位易于附着于另一个分子。这是一种在膜两边同时起作用的效应（图 20-15）。

整联蛋白的构象改变用以跨膜传递化学和力学信号。胞内的信号分子可以在细胞内活化整联蛋白，使整联蛋白分子伸出膜外并抓住胞外的结构。接着，与胞外结构结合可通过激活细胞内信号转导途径。这个过程需要结合在整联蛋白胞内端的蛋白激酶。就这样，作为一种辅助

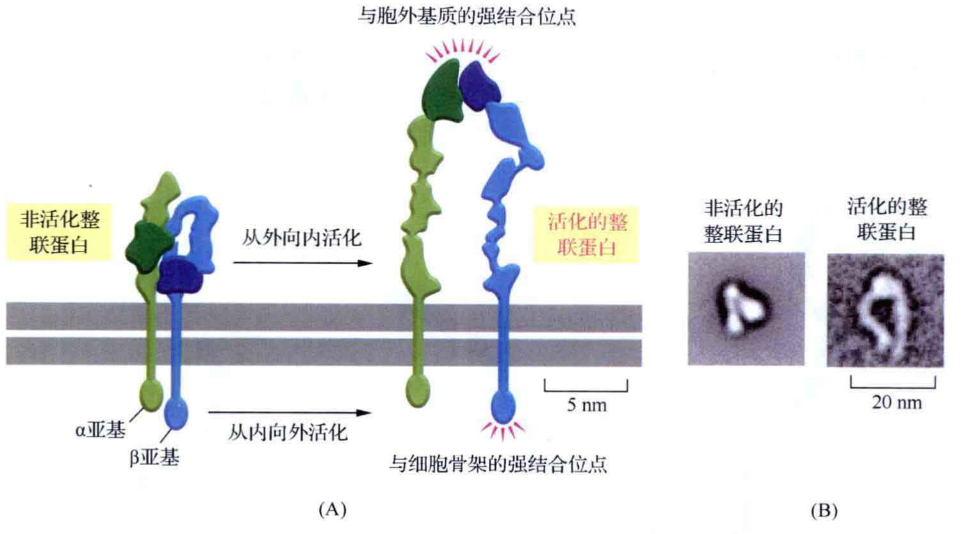


图 20-15 整联蛋白分子与其任何一端的某个分子结合，自身都会转换成活化的构象。(A) 整联蛋白分子由 α 和 β 两个亚单位组成，并且整联蛋白可以在折叠的、非活化状态和展开的、活化状态之间转换。与胞外基质分子(如纤连蛋白)或随后与细胞骨架相连的胞内蛋白结合使得整联蛋白转变成活化状态。无论哪一种情况，构象转换改变了整联蛋白分子，它的膜对侧的部分很快与另一个结构形成连接以达到对应平衡。整联蛋白通过这种方式形成跨膜的机械连接；(B) 单个整联蛋白分子的电子显微镜照片，显示一个整联蛋白分子，如何对一个小多肽分子，模仿与整联蛋白分子结合的胞外配体的小多肽分子(多肽分子太小看不见)做出反应，从而改变形状。(A，基于 T. Xiao et al.，*Nature* 432：59-67，2004. 经 Macmillan Publishers Ltd. 同意；B，引自 J. Takagi et al.，*Cell* 110：599-611，2002. 经 Elsevier 同意)

方式，细胞的胞外黏着调节着细胞的生或死；而如果是活下来的话，则调节其生长、分裂或分化。

人体内具有至少 24 种整联蛋白，它们辨认不同的胞外结构，并且根据所在细胞的类型行使各自的功能。例如，白细胞上的整联蛋白帮助白细胞爬出被感染处的血管以便对付那些引起感染的有害微生物。白细胞黏附缺陷病患者因缺少这种整联蛋白，导致反复细菌感染。另一个例子是一种在血小板上发现的整联蛋白，缺少这种蛋白质的人出血过多，因为他们的血小板无法结合胞外基质中可以止血的凝血因子。

20.1.7 多糖和蛋白质凝胶填充间隙并抗压

动物的胞外基质中，胶原蛋白提供抗拉强度因而可以抵抗拉伸，而另外一组完全不同的大分子则提供互补的功能，它们抗压并填满空隙。这些是**蛋白聚糖**，是细胞外蛋白连接着一类特殊的带负电荷的复杂多糖，即**糖胺聚糖(GAG)**(图 20-16)。糖胺聚糖的大小、形状和化学组成极为多样。许多 GAG 链可以连接在一个核心蛋白质上，而其本身又在一端与另一个 GAG 相连，产生出一个极为巨大的瓶刷状的大分子，分子质量可达数百万道尔顿(图 20-17)。

在致密结缔组织如肌腱和骨中，GAG 的比例很小，基质主要由胶原蛋白组成(在骨组织中由胶原蛋白加上磷酸钙结晶组成)。而在另一个极端的例子即眼球内的胶状物质，则几乎全部由一种特殊类型的 GAG 加上水分以及一点点胶原蛋白所组成。通常 GAG 高度亲水，并倾向于采取高度伸展的构象，因而相对于它们的质量来讲它们占巨大的体积(图 20-17)。它们甚至在很低浓度时就可以形成胶体。它们的负电荷吸引了大群渗透性活跃的阳离子如 Na^+，使得大量的水被吸到基质中来，这一现象产生了膨胀压，而该膨胀压又被与糖蛋白交织在一起的胶原蛋白纤维的张力所平衡。当基质中既富含胶原蛋白，同时大量的 GAG 又被包容在它的网络中时，膨胀压和与之平衡的张力都很大，这样的基质是坚韧而又有弹性的，而且能抗压。例如，膝关节的软骨基质就有这种特性：它可以承受在每平方厘米上数百千克的压强。

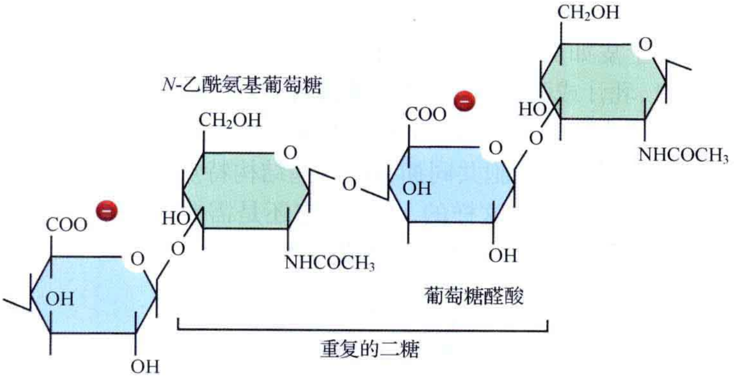


图 20-16 结缔组织中糖胺聚糖(GAG)填充结缔组织中胞外基质的空隙。这里显示一个透明质素单位，一种相对简单的GAG。它由单条长链组成，这条长链由多达 25 000 个重复的双糖单位组成，每个单位都带负电荷。与其他 GAG 中的情况一样，每个双糖中有一个单糖是氨基糖。许多GAG带有另外的负电侧基，特别是硫酸基。

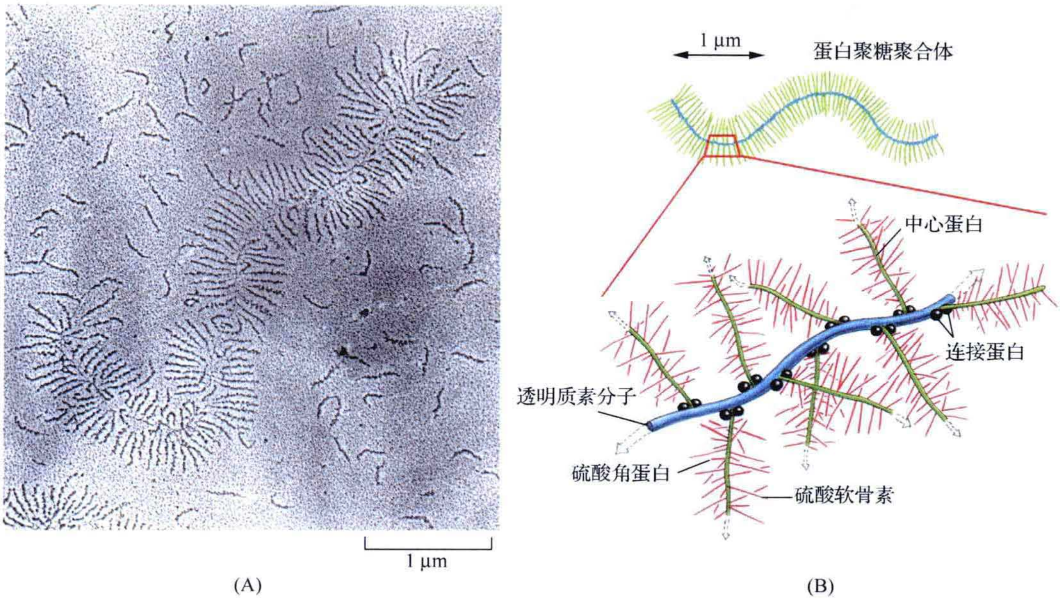


图 20-17 蛋白多糖和 GAG 可以形成大的聚集体。(A) 来自软骨的多聚体在平面上伸展的电子显微镜照片。许多游离亚基——它们本身就是蛋白聚糖分子——清晰可见；(B) 对(A)中巨大聚合体的示意图，显示它是如何由 GAG(红色和蓝色)和蛋白质(绿色和黑色)组成的。这样一个复合物的分子质量可达到 10^8 Da 甚至更大，它所占据体积相当于一个细菌，即 2×10^{-12} cm^3。(A 蒙 Lawrence Rosenberg 惠许)

糖蛋白除了简单地为细胞周围提供水化的空间外，还行使许多精巧的功能：它们可以形成不同孔径以及不同电荷密度的凝胶，用作滤膜调节穿过胞外介质分子的流通；它们可以与生长因子及作为细胞信号的其他蛋白结合；它们可以阻断、促进或引导细胞通过基质进行迁移。基质的组分以上述种种方式影响着细胞的行为，且往往是那些分泌它的细胞的行为。这是一种双向作用，对细胞分化过程有重大影响。细胞究竟如何编织起这张基质分子挂毯的，留在织物中的化学信息是如何组织的以及如何起作用的，这些都有待于进一步研究。

20.2 上皮层和胞间连接

一个脊椎动物体内有多于 200 种不同的细胞类型。其中大部分细胞连接在一起组织成多细胞片层，称为**上皮层(单层上皮)**。有时候细胞片层有好几个细胞那么厚，或是分层的，如覆盖皮肤的表皮细胞；还有一些是只有一个细胞厚度的简单上皮，如在肠内的被覆上皮。上皮细胞

形状各异，有些是高高的柱状，或立方体形状，或扁平鳞状（图 20-18）。这些细胞可能是同种类型的，也可能是不同类型的混合物。有些上皮如皮肤，可以仅仅作为保护屏障；有一些还具有复杂的生化功能，如分泌特殊的物质如激素、乳汁或眼泪；它们可以吸收营养，如肠被覆上皮；或是探索信号，如眼睛视网膜上的光感受器接受光线，耳朵中的听毛上皮细胞接受声音。通过这些以及其他种种变化，我们可以认识到所有动物上皮细胞共同拥有的一些结构特点。细胞的上皮性排列如此常见，以致很容易被人认为它是理所当然这样的。不过，它还是需要一套特殊的结构，就像我们在下节中所读到的那样，这些结构也是许多不同细胞类型所共有的。

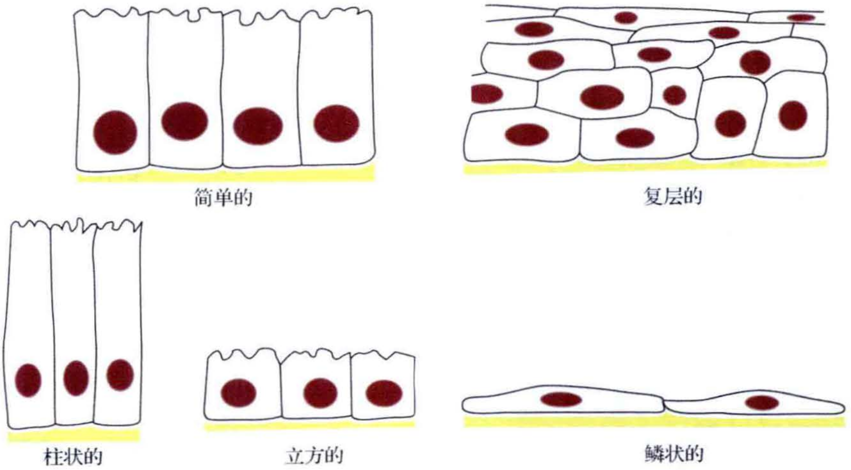


图 20-18　细胞以不同的方式堆积成上皮层。图中显示五种上皮的基本类型。

上皮细胞覆盖身体的外面并给它的所有内腔做衬里。在多细胞动物的进化过程中，这应是一个很早出现的特点，其重要性是显而易见的。对于多细胞生物来说，在一层上皮中细胞集合在一起形成一层屏障，它对于多细胞生物的意义就像质膜对单个细胞的意义一样。它可以让有些分子进入，有些分子出去；它吸收营养，排除废物；它含有响应外界环境信号的受体；它防止生物内部受到微生物的侵犯，也防止水分流失。

20.2.1　上皮层是极化的并位于基板上

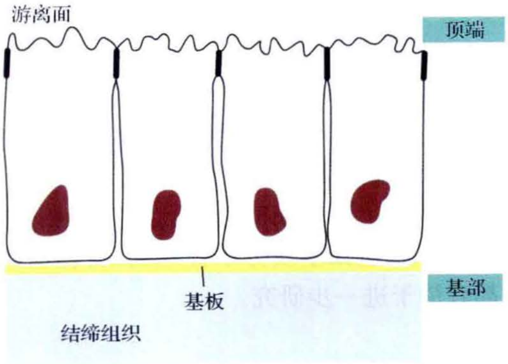


图 20-19　上皮细胞层有顶端和基底两个表面。基底表面在一层特别的胞外基质上，称为基板，而顶端表面是游离的。

上皮层具有两个面：**顶端**的游离面暴露于空气或类似水的流体中；**基部**表面，坐落在一些它所接触到的其他组织——通常是结缔组织——之上（图 20-19）。支持上皮基部表面的是一层薄而坚韧的胞外基质层，称为**基板**（图 20-20），它由一种专门的胶原蛋白（Ⅳ型胶原蛋白）以及各种其他分子组成，其中包括*层粘连蛋白*。它为上皮细胞质膜上的整联蛋白提供黏着部位，和纤连蛋白在结缔组织中所起的连接作用很相似。

上皮组织的顶端表面和基部表面在化学组成上是不相同的，反映出各个上皮细胞内部的一种极化的组织方式：每个细胞都有一个顶部和一个底部，不同部分有不同的特性。这种极化的组织方式对上皮细胞的功能至关重要。例如，动物

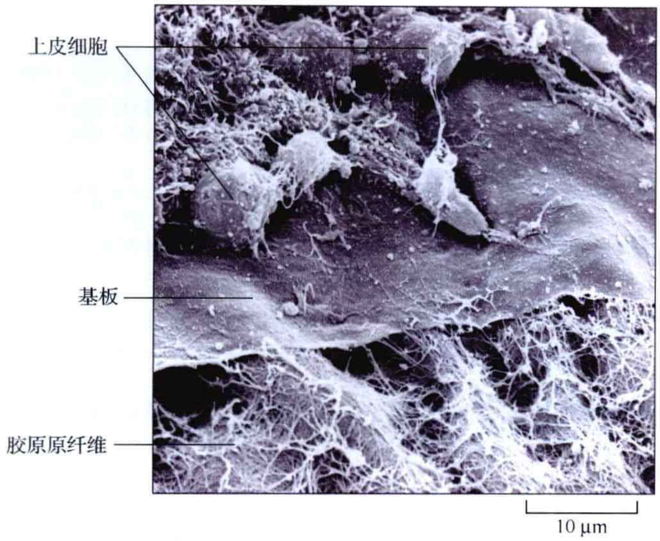


图 20-20 基板支撑上皮细胞层。鸡胚角膜中基板的扫描电子显微镜照片。部分上皮细胞已经被除去，暴露出由Ⅳ型胶原蛋白交织形成的席状基板的上表面。在下面的结缔组织中别的胶原蛋白原纤维网络与基板的下表面相连。（蒙 Robert Trelstad 惠许）

小肠内表面的简单柱状上皮层，由两种不同的细胞交织组成，即摄取营养的吸收细胞以及负责分泌黏液、保护及润滑肠道的杯状细胞（因其形状而得名）（图 20-21）。这两种细胞都呈极性，吸收细胞通过它的顶端表面从肠道摄入食物分子然后从基部表面把这些分子送到下面的组织中。为了实现这一点，在它们的顶端表面和基部表面需要有不同的膜转运蛋白（图 12-17）。杯状细胞也必须是极性的，但是是以另一种方式：它们必须合成黏液然后只从顶端表面排出去（图 20-21），所以高尔基体、分泌小泡以及细胞骨架都不对称地分布在细胞内以便完成这个任务。这些上皮组织结构取决于上皮细胞之间以及上皮细胞与基膜的连接，反过来也控制着质膜介导的胞内蛋白排布的复杂系统，最终使胞质内容物极性分布。

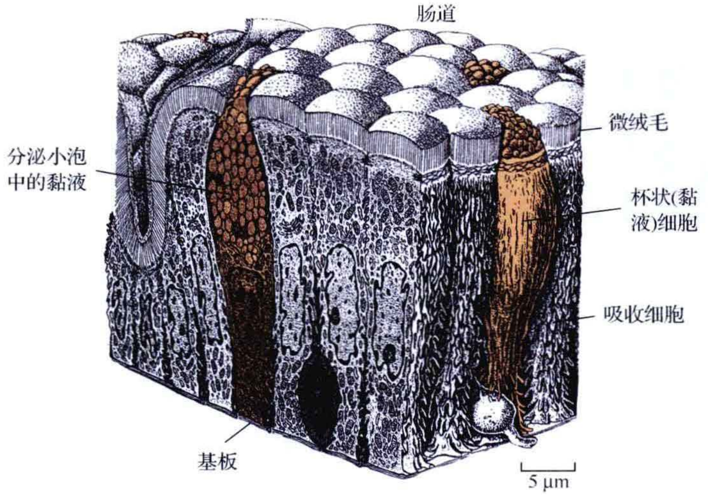
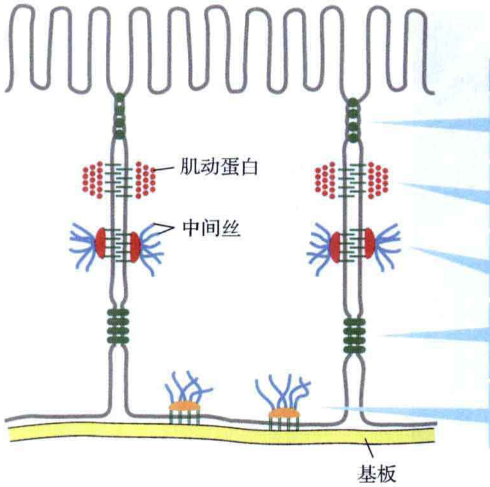


图 20-21 肠道被覆层中功能性极化的细胞类型。从肠道中吸收营养的吸收细胞与分泌黏液到肠道中去的杯状细胞（灰色）在肠被覆层中混在一起。吸收细胞往往被称为刷状缘细胞，因为在它的顶端面有微绒毛刷状物。用于扩大细胞质膜表面积，把小分子转运入细胞。杯状细胞高脚玻璃杯的形状归因于大量的分泌小泡扩张其顶端区。（引用并改动自 R. Krstić. Human Microscopic Anatomy. Berlin: Springer, 1991. 经 Springer-Verlag 同意）

20.2.2 紧密连接使上皮不渗透并且隔离其顶端表面和基部表面

上皮细胞的细胞连接可按功能分类。有些细胞连接就像致密的封条，防止分子从细胞间的缝隙穿越上皮渗漏出去；有些提供强有力的机械连接；有些则为细胞提供专一的化学通讯。在大部分上皮中，上述三种细胞连接都同时存在（图 20-22）。每种连接因促使细胞黏附在一起的膜蛋白的不同而各具特点。



名称	功能
紧密连接	将一个上皮层中的相邻细胞封接起来，防止它们之间分子"点焊"泄露
黏着连接	将相邻细胞的肌动蛋白丝束连接起来
桥粒	将一个细胞和相邻细胞两者的中间丝连接起来
间隙连接	在细胞之间形成通道，允许水溶性小分子，包括离子通过的连接
半桥粒	将一个细胞内的中间丝锚定在基板上

图 20-22　动物上皮中发现的细胞与细胞间连接的几种类型。紧密连接是上皮所特有的，而其他类型的连接稍有变化，也出现于各种非上皮组织中。

在脊椎动物中，**紧密连接**起密封的作用。这种连接将相邻的细胞紧紧地结合在一起使水溶性分子无法轻易地从它们中间漏出去；如果把一示踪分子放在上皮层的一侧，通常它不会穿越紧密连接(图 20-23)。紧密连接由密封蛋白(claudin)和闭合蛋白(occludin)两种蛋白质组成，它们沿着紧密连接的界限排列成行而产生密封效果。如果没有紧密连接来防止渗漏，肠上皮中吸收细胞的泵送作用将会是徒劳的，而上皮层两侧的液体组分也将会变得一样。就如我们在第 11 章讨论的，紧密连接在维持单个上皮细胞的极性方面也有关键作用，表现在两个方面：首先，位于每个细胞顶端周缘的紧密连接复合物防止膜蛋白在膜上的迁移扩散，从而使质膜的顶端域不同于基部(或基部外侧)域(图 11-34)。其次，在许多上皮中，紧密连接也是那些控制细胞内部

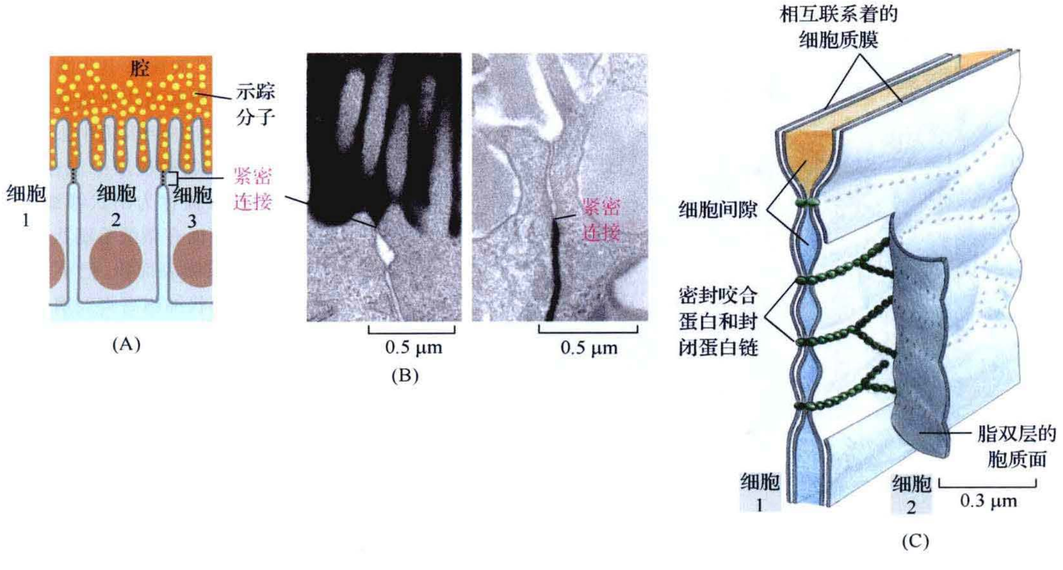


图 20-23　紧密连接使细胞层起溶质扩散屏障的作用。(A) 在上皮层一侧施加的胞外示踪小分子如何无法穿越黏合相邻细胞的紧密连接；(B) 上皮中的细胞的电子显微镜照片。胞外小分子(染成深色)施加在顶端面(*左边*)一侧或是底旁侧(*右边*)。两种情况下示踪物都被紧密连接所阻挡；(C) 紧密连接的结构模型，显示细胞如何通过其脂双层外层中的蛋白——密封蛋白和闭合蛋白(绿色)——相互封接在一起。(B 蒙 Daniel Friend 惠许)

顶端-底部极性的胞内蛋白进行组装的地方。

20.2.3 与细胞骨架相连的细胞连接坚固地把上皮细胞和上皮细胞以及上皮细胞和基板结合起来

有三种类型的细胞连接通过形成机械的结合而将上皮细胞连接在一起：黏着连接和桥粒连接负责上皮细胞间的连接，而半桥粒负责将上皮细胞与基板结合起来。所有这些细胞连接通过我们在结缔组织中已经遇到过的方式来提供机械强度（图 20-14C）：形成胞外黏着的分子穿越细胞膜并与胞内强劲的细胞骨架相连。以这种方式，细胞骨架丝被连接成一个网络，这个网络从一个细胞到另一个细胞遍布上皮层整个宽广的区域。

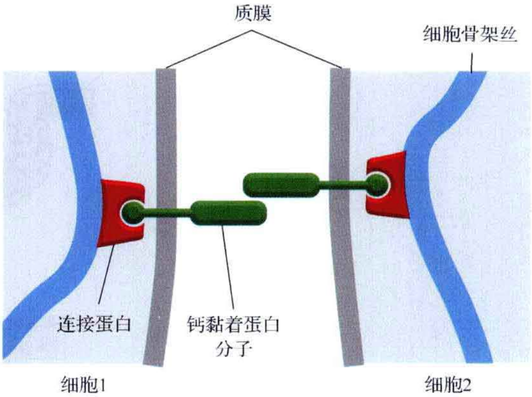


图 20-24 钙黏着蛋白分子介导细胞间的机械性附着。相邻两个细胞质膜上相似的钙黏着蛋白分子在胞外互相结合；在胞内，它们通过连接蛋白与细胞骨架丝如肌动蛋白或角蛋白结合。当两个细胞互相接触时，它们的钙黏着蛋白会集中到它们接触的位点（视频 20.2）。

黏着连接和桥粒连接两者都建立在跨膜蛋白**钙黏着蛋白**家族分子的周围：一个细胞质膜上的钙黏着蛋白直接与相邻细胞质膜上的相同的钙黏着蛋白分子结合（图 20-24）。这种相同分子的结合称为同嗜性黏着。由于钙黏着蛋白的结合需要胞外介质中存在 Ca^{2+}，它因此而得名。

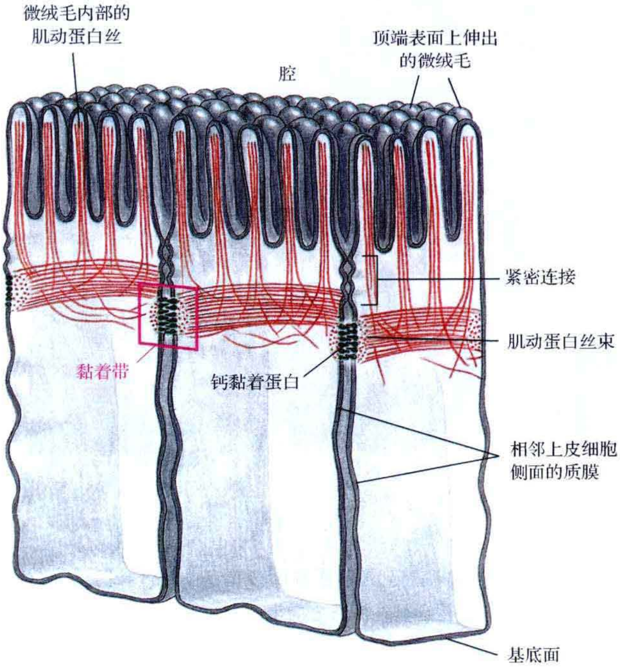


图 20-25 小肠中黏着连接围绕上皮细胞形成黏着带。可收缩的肌动蛋白丝束沿着每个细胞顶端附近质膜的胞质面分布。在相邻细胞之间这些肌动蛋白丝束通过跨膜的钙黏着蛋白分子相互联系（图 20-24）。

在**黏着连接**处，每个钙黏着蛋白分子通过与一些连接蛋白和肌动蛋白丝相连，从而被契牢在细胞中。通常，黏着连接围绕着每一个上皮细胞形成一条连续的黏着带，这条带位于靠近细胞顶端的部分，就在紧密连接的下方（图 20-25）。肌动蛋白丝束因此而使整个上皮的细胞联系在一起。这个肌动蛋白网络具有潜在的可收缩性，因而使得上皮层具有产生张力的能力，并且以惊人的方式改变其形状。通过沿着一个轴收缩其顶端表面，上皮层可以弯曲，把它自己卷成一条管子（图 20-26A）。另外，通过沿着两个轴向同时局部收缩它的顶端表面，这个上皮层可以产生一个杯状的腔，并且最终产生一个囊泡，可以从上皮层上掐断下来。上皮层的这种运动在胚胎发育中是极为重要的，它们以此方式产生神经管——神经系统的原基（图 20-26B）以及晶状体泡——

眼的晶状体原基(图 20-26C)。

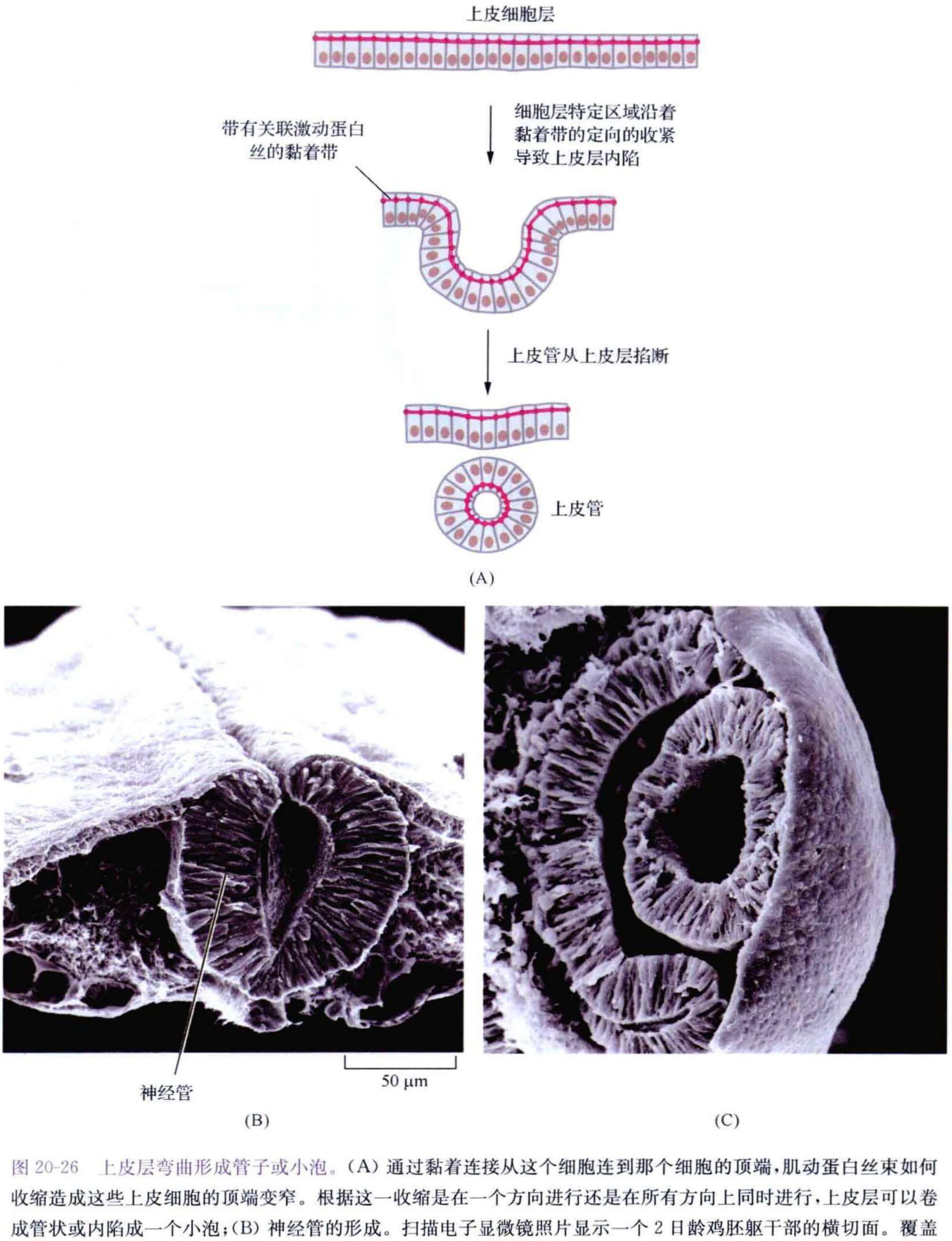


图 20-26 上皮层弯曲形成管子或小泡。(A) 通过黏着连接从这个细胞连到那个细胞的顶端，肌动蛋白丝束如何收缩造成这些上皮细胞的顶端变窄。根据这一收缩是在一个方向进行还是在所有方向上同时进行，上皮层可以卷成管状或内陷成一个小泡；(B) 神经管的形成。扫描电子显微镜照片显示一个 2 日龄鸡胚躯干部的横切面。覆盖在胚胎上的部分上皮层增厚，通过顶端收缩卷成一管，并开始分离形成一个独立的内部结构；(C) 晶状体的形成。覆盖在胚胎眼视网膜原基上的一小片表面上皮开始凹陷，最终掐断成为独立小泡——晶状体泡——于眼杯内。(B 蒙 Jean-Paul Revel 惠许；C 蒙 K. W. Tosney 惠许)

相反在**桥粒**中，一套与黏着连接不同的钙黏着蛋白分子锚定在每个细胞内的中间丝上，特别是与发现于上皮细胞的角蛋白相连(图 20-27)。粗索状的角蛋白丝束在细胞质中纵横交织，

并通过桥粒连接与相邻细胞的角蛋白丝束电焊似地连接起来，使之具有巨大的抗拉强度。这一结构在暴露在外的上皮如皮肤的表皮中特别丰富。

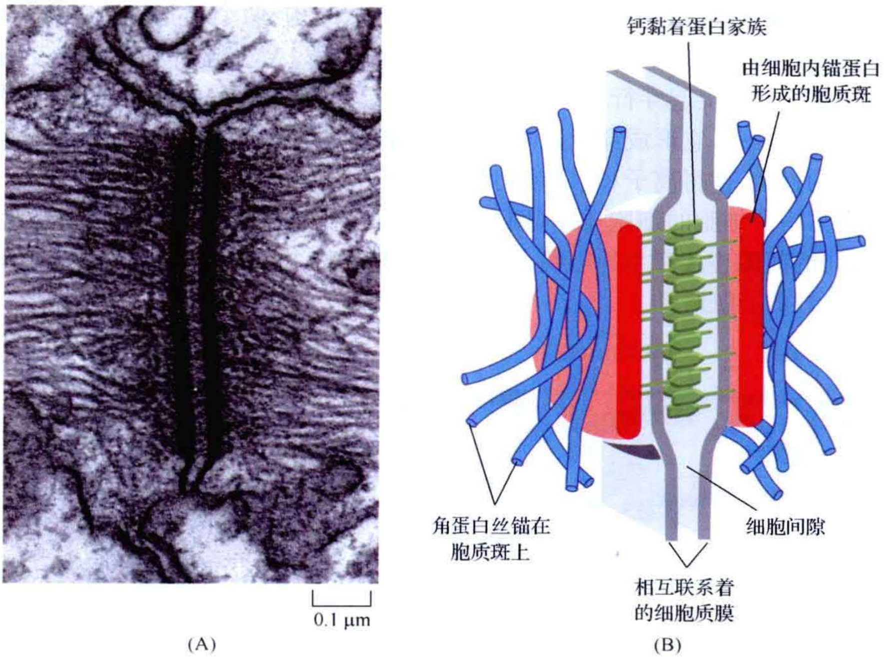


图 20-27　桥粒分别连接相邻两个细胞的角蛋白丝。(A) 蝾螈表皮中连接两个相邻细胞桥粒的电镜照片，显示角蛋白丝附着其上；(B) 一个桥粒的图解。相邻细胞形成桥粒时，在每一相联系着的质膜的胞质面上，有一个由各种胞内连接蛋白混合物所组成的致密的斑，角蛋白丝就锚着在该斑的内表面上。钙黏着蛋白家族的蛋白质则锚着在每一个斑的外表面上，穿越细胞质膜并把两个细胞结合在一起。(A 引起 D. E. Kelly, *J. Cell Biol*. 28:51-72,1966. 蒙 Rockefeller University Press 版权允许)

手脚上磨起的水泡痛苦地提醒我们，对于上皮细胞来说，光它们自己相互之间紧密地结合在一起是不够的，它们还必须锚定在其下的组织上。我们前面提到过，这一锚接是由上皮细胞基底面质膜中的整联蛋白所介导的。这些整联蛋白在胞外与基板中的层粘连蛋白结合，在胞内与角蛋白丝相连，形成一个完全像是半个桥粒的结构，因而上皮细胞与位于其下的胞外基质间的这种附着结构被称为**半桥粒**(图 20-28)。

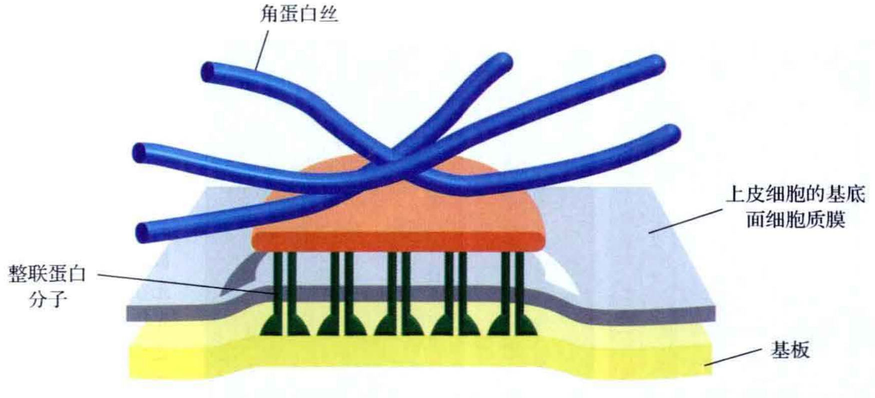


图 20-28　半桥粒将一个上皮细胞中的角蛋白丝锚着在基板上。由整联蛋白介导。

20.2.4 间隙连接使离子和小分子能在细胞之间穿行

上皮细胞中的最后一类细胞连接几乎在所有的上皮及许多其他组织中都存在，行使完全另一种功能，它就是**间隙连接**。在电子显微镜下可看到它的结构：两个细胞的质膜在一个区域靠得非常近，而且恰好平行，中间只有 2～4 nm 的狭缝（图 20-29A）。这个狭缝不是空的，而是有许多相同的蛋白复合物的突起穿行其中，这些蛋白复合物位于会合着的两个细胞的质膜中。这些蛋白复合物称为**连接子**，它形成穿越这两个细胞质膜的通道，并以端部对端部的方式排列，从而产生一个狭小的过道，使得离子和水溶性小分子（分子质量约 1000 Da）可直接从一个细胞的细胞质中穿行到另一个细胞的细胞质中（图 20-29B）。这样就产生了细胞间电和代谢的耦合。例如，心肌细胞间的间隙连接产生的电偶合使兴奋电波在整个组织中传播，触发细胞的协同收缩，从而产生规律性的心脏跳动。

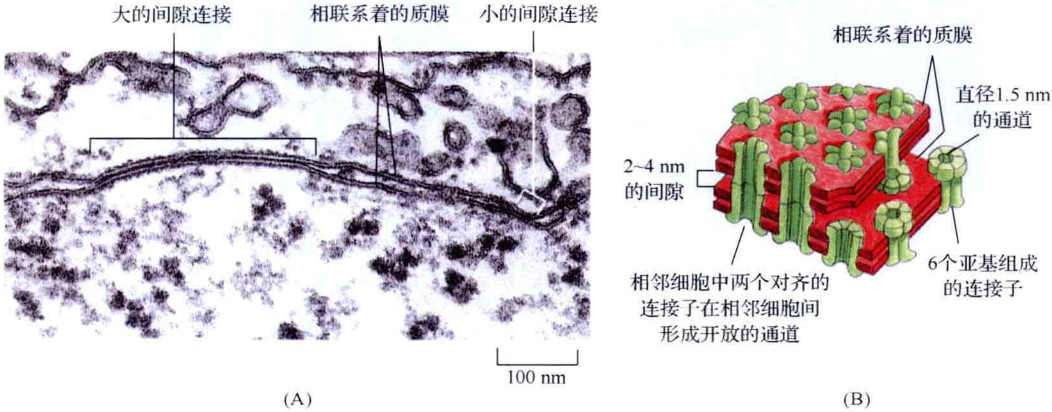


图 20-29 间隙连接为相邻细胞提供直接的通讯通道。（A）电子显微镜薄切片照片显示两个培养细胞之间的两处间隙连接；（B）间隙连接的模型。图示两个相邻细胞相对应的质膜，脂双层（红色）上穿行着称为连接子（绿色）的蛋白质组件。一般认为每个组件由 6 个同样的蛋白质亚基组成。两个连接子连起来跨越细胞间的缝隙，形成一个含水的通道，连接两个细胞。［引自 N. B. Gilula. in：*Cell Communication*（R. P. Cox，ed）. PP. 1-29. New York：Wiley，1974；由 John Wiley & Sons 公司允许翻印］

在许多组织中间隙连接响应胞外信号，根据需要开启或关闭。比如当视网膜感受到的光强度增加时，神经递质多巴胺便会减少神经元间的间隙连接通讯（图 20-30）。这种间隙连接的通透性减少改变了电信号的方式，帮助视网膜在负责检测弱光的棒状光感受器和负责检测强光颜色和细节的锥形光感受器之间转换。

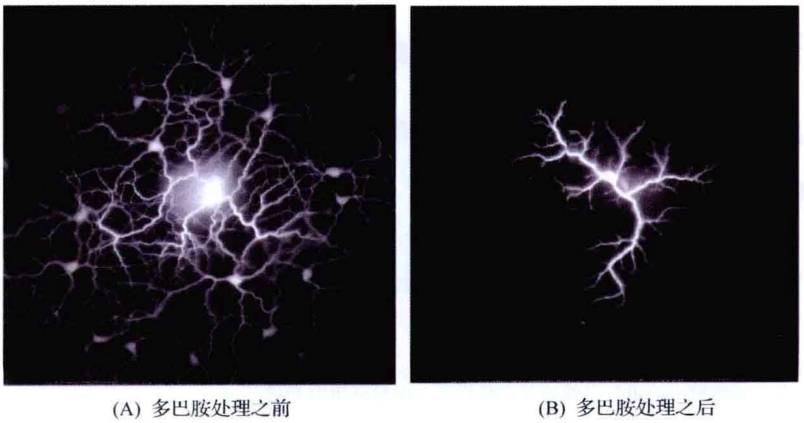


图 20-30 胞外信号能调节间隙连接的通透性。（A）兔视网膜的一个神经元被注入黄色荧光素染料后，染料很快通过间隙连接传递开来。通过间隙连接与这个神经元连接的其他相同类型的神经元都被染上了黄色荧光；（B）神经元在注入黄色荧光素染料前先用神经递质多巴胺处理。之后看到，多巴胺处理后间隙连接的通透性大大降低。（蒙 David Vaney 惠许）

奇怪的是，尽管植物细胞缺少我们在前面描述过的所有其他类型的细胞连接，却都有一个间隙连接的功能性对应物。相邻的植物细胞的细胞质由可穿过两细胞间细胞壁的非常小的称为**胞间连丝**的联络通道相连接（图 20-31）。与间隙连接相比，胞间连丝是连接着两个细胞质膜的胞质通道，因此胞间连丝连接的不同植物细胞的胞质是连续的。离子和小分子甚至如蛋白质、小 RNA 等大分子都能通过胞丝连接，而转录调控因子在细胞间受调控的流通对植物发育非常重要。

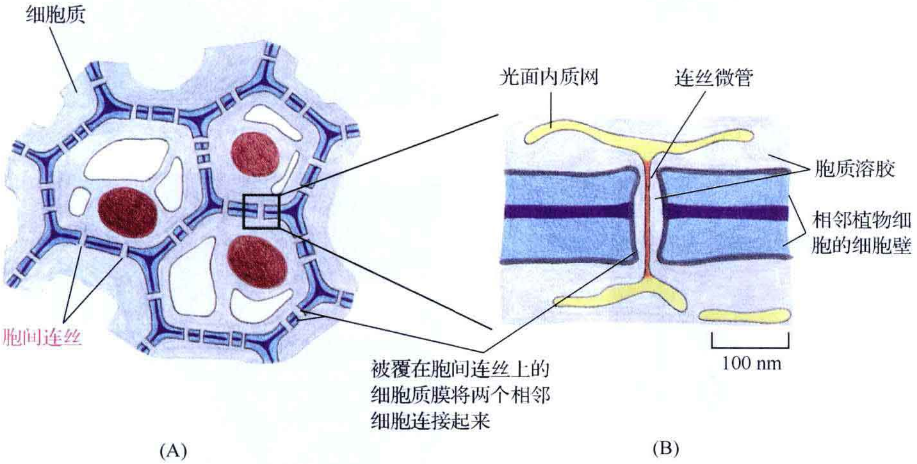


图 20-31　植物细胞通过胞间连丝相连。（A）胞间连丝的细胞质通道穿透植物细胞壁，把一株植物中所有的细胞连接在一起；（B）每一条胞间连丝都被覆着为两个相连细胞所共有的质膜。它通常还有一个细管状的结构，叫连丝微管，由光面内质网衍生而来。

20.3　组织的维持和更新

如果我们不明白组织里惊人的结构是怎么来的，也很难思考组织构成的问题。这就引发出生物学界最原始和基础的问题：一个小小的受精卵是怎么发育成多细胞生物的个体的？

发育从单个细胞——一个受精卵——开始。它不断地分裂，产生一个多细胞的克隆（对于人类来说，这个克隆有一万亿个细胞），这些细胞带有相同的基因组但以不同的方式分化。这个克隆有自己的结构：或是一株雏菊，或是一棵橡树，或是一个海胆，或是一条鲸，或是一只小鼠（图 20-32）。这一结构是由受精卵所携带的基因组决定的。DNA 中的 A、T、G 和 C 核苷酸线性序列指导着数目巨大的不同类型细胞的产生，每种都表达不同的几组基因，并且排列成精确的、复杂的三维模式。

尽管动物的身体结构可能极为复杂，但它是根据细胞活动的一套有限的节目单所产生的。就像我们在前面几章中看到的，细胞生长、分裂和死亡，它们形成机械性接触并产生力用于运动；它们通过启动或关闭一些特殊蛋白质的产生从而分化；它们产生信号分子来影响邻近的细胞，并对邻近细胞传递给它们的信号做出反应；它们能记忆前一次接收的信号的效应，因而特征变得越来越鲜明。基因组在每个细胞中是相同的，它负责确定一些规则，使各种各样可能的细胞活动按照规则依次执行。通过基因组在每个细胞内的运行，指导整个复杂的多细胞发育过程，使一个受精卵变为一个成体。视频 1.1、视频 20.3 和视频 20.4 演示青蛙、果蝇和斑马鱼的胚胎发育过程。

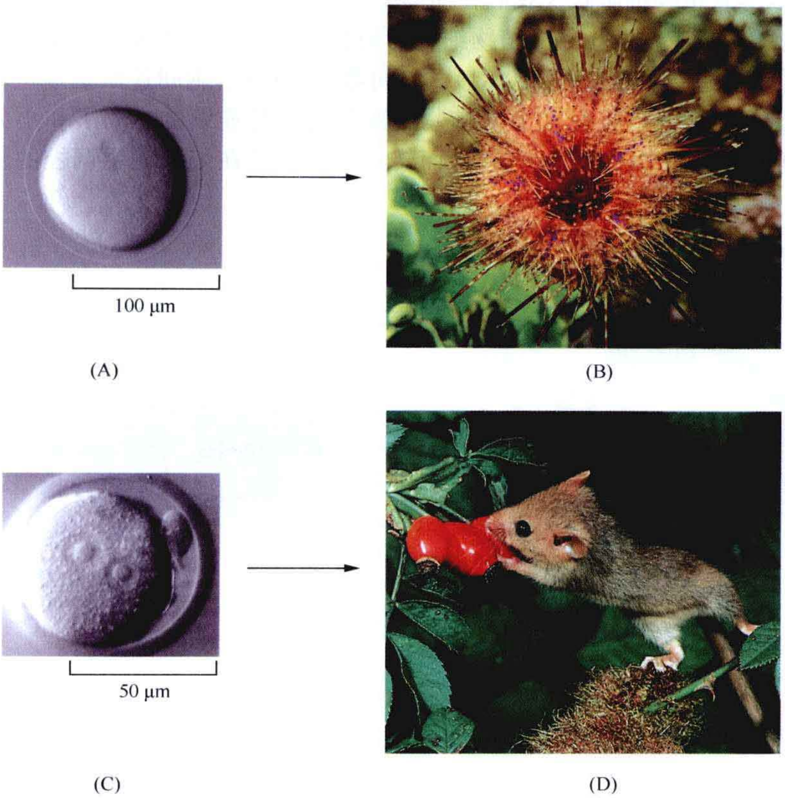


图 20-32　受精卵的基因组决定由它产生的细胞群体的结构。(A)和(B)海胆的受精卵长成一个海胆;(C)和(D)小鼠的受精卵长成一只小鼠。(A,蒙 David McClay 惠许;B,蒙 M. Gibbs 惠许,经 Oxford Scientific Films 允许;C,蒙 Patricia Calarco 惠许,引自 G. Martin,*Science* 209:768-776,1980,经 AAAS 允许;D,蒙 O. Newman 惠许,经 Oxford Scientific Films 允许)

对发育生物学家来说,他们面对的挑战是解释从受精卵发育成成体生物个体的一系列连锁事件发生的顺序。即使目前我们已经了解了发育过程中的许多事件,但我们还无法给这个问题一个答案,因为得到的这些信息还不足以公正合理地回答这个问题。然而,一些在发育过程中创建出生物体的基本生命活动仍然在继续活跃,新的细胞不断地在精确的控制下产生。这一部分我们讨论的正是这个较为局限的话题:脊椎动物组织的结构和维持。

20.3.1　组织是多种细胞类型有规律的混合物

虽然我们体内特化的组织在很多方面都各不相同,但它们都有一些基本需求,该需求通常由多种不同类型的细胞所提供,如图 20-33 中的皮肤。本章前面已经提到,所有组织都需要机械强度,一般由支撑层或成纤维细胞分泌的结缔组织的框架提供。在这样的结缔组织中,内衬内皮细胞的血管可以满足组织对氧气和养分的需要,同时排出代谢产物。同样地,在多数组织中,有神经元的轴突向组织传递神经冲动,而轴突由 Schwann 细胞形成的绝缘的髓鞘包裹。巨噬细胞处理濒死的细胞和无用的残渣;淋巴细胞和其他白细胞抵御外界微生物感染。这些品种繁多的细胞除大部分起源于它们发挥功能的组织外,有些只在组织发育的过程中迁移到该组织中(如内皮细胞、神经细胞轴突和 Schwann 细胞),另一些细胞则随时都可以迁移到该组织中(如巨噬细胞和其他白细胞)。这种复杂的支撑系统维持组织内细胞的功能,如肌肉中的收缩细胞、腺体的分泌细胞、骨髓内的造血细胞,等等。

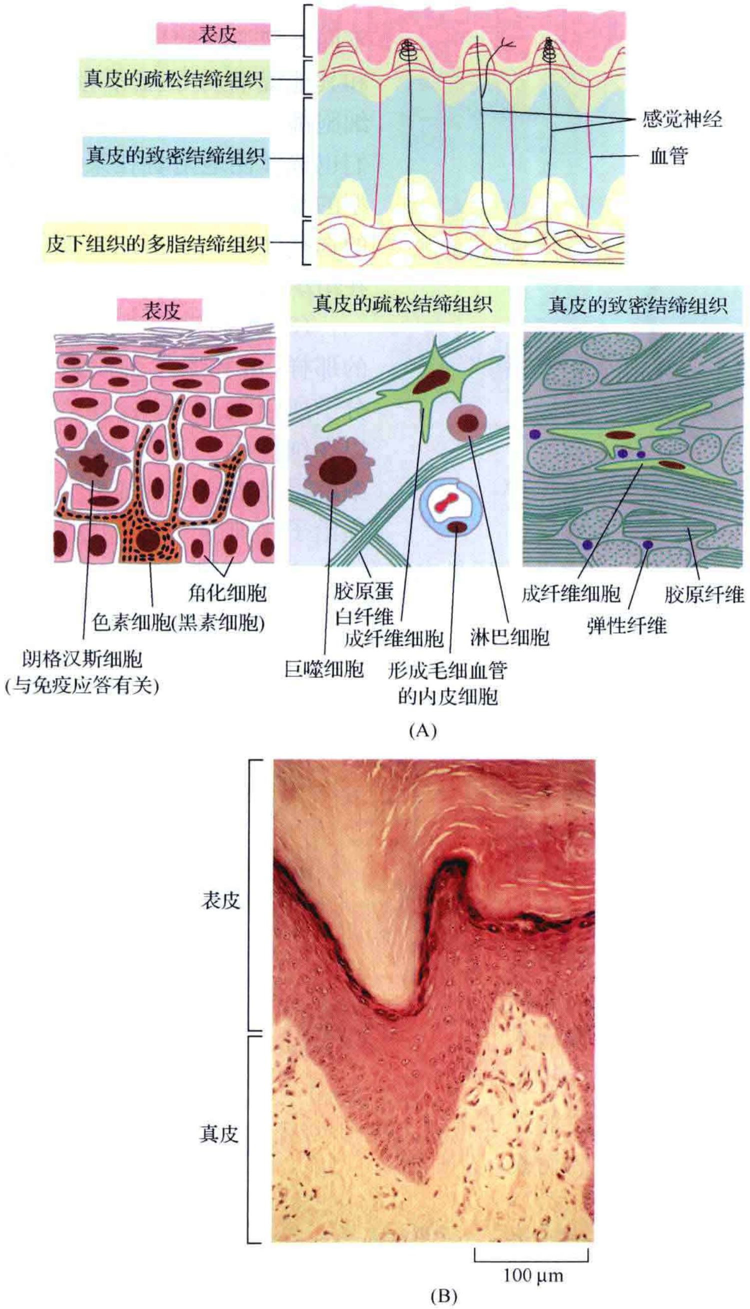


图 20-33 哺乳动物的皮肤由多种类型的细胞混合组成。(A) 厚皮组织的细胞群组织结构图解;(B) 人类脚掌横截面的光学显微镜图片,经苏木精和伊红染色。皮肤可以看成是一个巨大的器官,主要由两种组织组成:覆盖在最外层的上皮组织(表皮),以及组成坚韧的真皮(羽毛从这里产生)和富含脂肪的皮下组织的结缔组织。每一类组织都有许多种细胞组成。真皮和皮下组织含丰富的血管和神经。一些神经纤维也延伸至表皮层。

因此,几乎每一种组织都是多种类型细胞的复杂的混合物,这些细胞共存于一个环境中,却又必须保持互不相同。此外,在多数成体组织中,细胞还在不断地死亡和被新的细胞替代,细胞新旧更替和组织更新在不断进行的过程中,组织还必须保持有序的结构。这种稳定性由三个主要因素负责(图 20-34)。

(1) 细胞通讯:组织中的每种细胞时刻检测着环境中来自其他细胞的信号,并相应地调节自己的行为;实际上,正是依赖于细胞社会的信号,各种细胞得以生存(第 16 章)。细胞通讯确保新细胞在正确的、有需求的时间和地点产生。

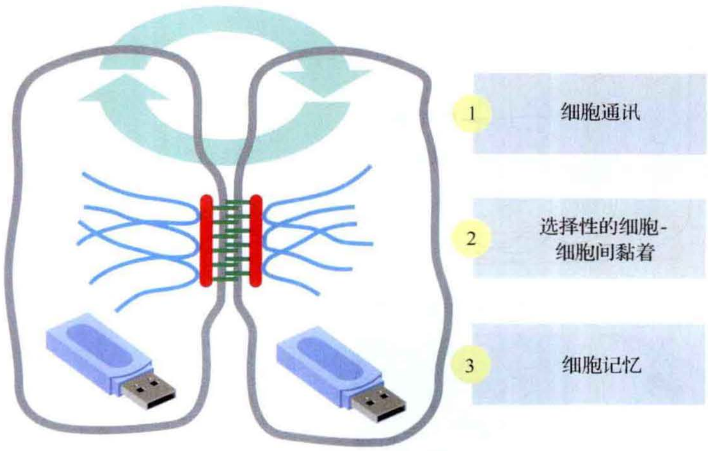


图 20-34　维持组织中细胞组织方式的三个关键因素。

（2）选择性细胞间黏连：由于不同类型细胞的质膜上的钙黏素和其他黏着分子互不相同，因而细胞都趋向与同类细胞黏连。它们也选择性地附着在某些细胞类型的细胞或是胞外基质上。黏着的选择性避免了不同类型的细胞在组织内混乱无章地聚集。

（3）细胞记忆：如第 8 章讨论的那样，由胚胎发育阶段的信号分子所启动的基因，表达模式可以在细胞中一直保持下去，因而细胞得以维持其特征并将特征传递给子代细胞。一个成纤维细胞分裂产生更多的成纤维细胞，内皮细胞分裂产生的还是内皮细胞。这种规则保持了组织内细胞种类的多样性，其精密的调节机制我们将在后面讨论。

20.3.2　不同的组织更新的速度也不同

组织内的细胞更新的速度和方式差异极大。一个极端的例子是神经细胞，它们的大多数可以终生存活而不死亡。另一个极端的例子则是小肠上皮细胞，每几天就会被更新一次。在这两者之间，不同的细胞更新的速率和方式各不相同，例如，人体内骨细胞及骨组织基质大概十年更新一次，旧的骨组织基质会逐渐被类似巨噬细胞的成骨细胞吃掉，而另一群类似成纤维细胞的成骨细胞分泌新的基质。人体内新的红细胞在骨髓内不断产生，继而被释放到体循环，120 天以后，这些血细胞被新的血细胞替换。在皮肤中，表皮的外层在不断地剥落并被下面的细胞层代替，因而表皮层大概每 2 个月更新一次。

这些更新的过程对我们的生命来说非常重要。假如人体遭受大剂量的离子辐射，那么细胞分裂将被阻止，进而阻断组织更新，几天内，小肠上皮细胞全部脱落，导致可怕的腹泻和失水等急性辐射病。

显然在正常和健康的成人体内必须要有调节细胞产生和死亡平衡的控制机制。一旦这个控制机制紊乱，细胞在自我更新的组织内过度增长就会发生癌症。想了解癌症的发病原理，就有必要弄清楚癌症是如何颠覆正常组织的更新过程的。

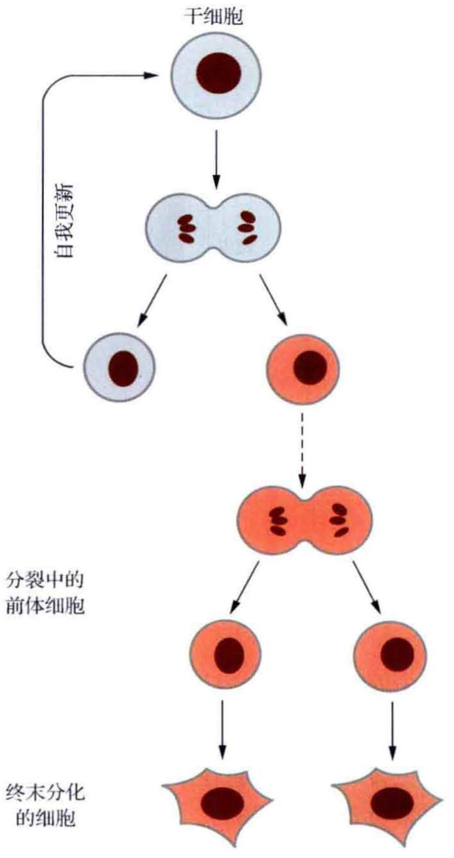


图 20-35　当一个干细胞分裂时，每一个子细胞既可继续保持为干细胞，也可变成终末分化细胞。终末分化细胞通常由前体细胞分化而来，前体细胞在分化之前分裂有限的次数。

20.3.3 干细胞持续供应终末分化的细胞

许多已经分化的细胞不能再自行分裂，因而需要有新的细胞来代替，如红细胞、表皮细胞以及肠组织的吸收细胞和杯状细胞都属于这一类，它们被称为终末分化细胞，处于细胞分化的最末阶段。

终末分化细胞的新旧交替由一群源自数量极少的**干细胞**分裂所产生的增殖性前体细胞所负责。干细胞和增殖性前体细胞都与对应的终末分化细胞一起存在于组织中。干细胞不是终末分化的，它们能无限分裂（至少在动物个体的寿命期内）。当一个干细胞分裂时，它的每一个子细胞都有两种可能：或者还是一个干细胞，或者向着终末分化出发，经历一系列前体细胞的分裂，最终不可逆地成为终末分化细胞（图 20-35）。干细胞和前体细胞本身并不具有特定的终末分化细胞的功能，它们的任务是产生这样的细胞。干细胞通常数量很少，无明显形态特征，这使得它们很难被辨认出来。尽管干细胞不是终末分化细胞，成体组织内的干细胞也还是在一定程度上是特化的：在正常情况下，它们稳定表达一套转录调控因子以保证它们的后代稳定分化为某一类细胞。

细胞新旧交替的形式各异。例如，在小肠组织中，吸收细胞和分泌细胞（产生黏液的杯状细胞以及一些其他分泌类型细胞）一起排列成单层的简单上皮覆盖在像手指一样向肠腔突起的微

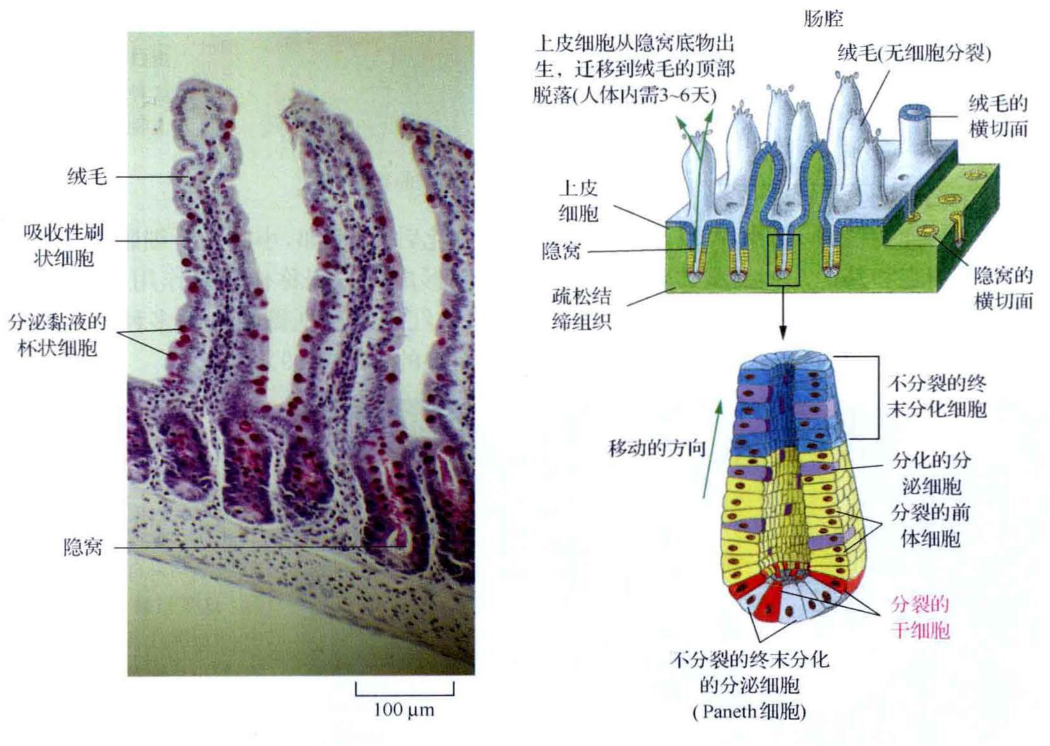


图 20-36 成体肠被覆上皮持续更新。(A) 哺乳动物的部分小肠被覆上皮横切面照片，显示绒毛和隐窝。分泌黏液的杯状细胞（染成紫红色）分散在绒毛上皮中具吸收功能的刷状缘细胞之间。相比数量较少的其他两种分泌细胞——分泌肠激素的肠内分泌细胞（此图中看不到）和分泌抗菌蛋白的 Paneth 细胞也同时存在并来自同一种干细胞；(B) 模式图显示哺乳动物小肠被覆上皮中细胞更新和干细胞增殖的方式。所有的分化细胞有一定的寿命，死于程序性细胞死亡，它不断地被干细胞的后代所补充。隐窝绒毛的结构被认为是由来自于隐窝环境的信号分子维持的，保持隐窝细胞在增殖的状态。这一点我们在后面解释。

绒毛的表面。由于上皮细胞是连续的，所以它也被覆在小肠的深入到下面结缔组织的隐窝表面，而干细胞就在小肠隐窝的底部附近。由干细胞产生的新生吸收细胞和分泌细胞首先在隐窝内分化；大部分分化中的细胞被滑动着沿着上皮层平面向上转移，直到暴露在小肠绒毛的表面；处于小肠绒毛末梢上的细胞死亡后落入肠腔（图 20-36）。

另一个例子是表皮。表皮层由分层的上皮细胞组成，干细胞和前体细胞附着在基底层上；正在分化的细胞从这里垂直向上移动到达表皮层平面（图 20-37）。

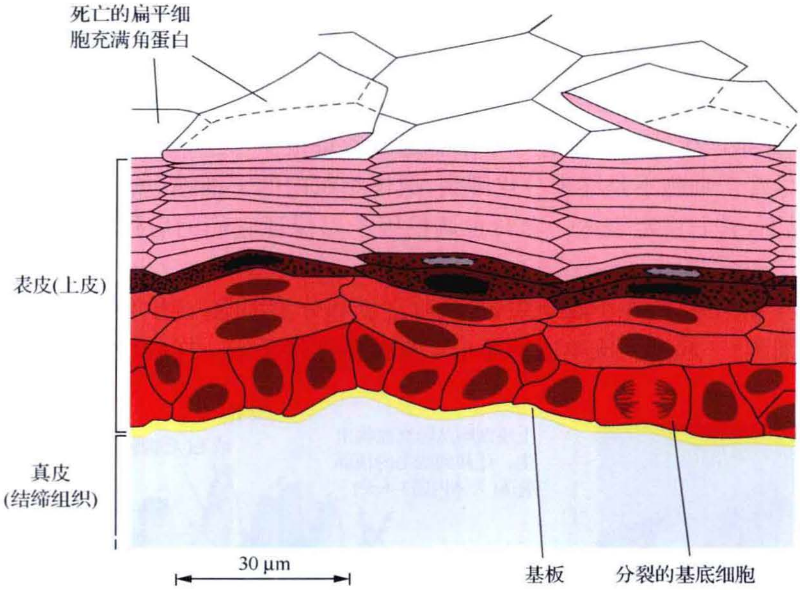


图 20-37 表皮由来自基板的干细胞负责更新。基板含有干细胞和由干细胞分裂而来的前体细胞。自出现在基板上开始，细胞停止分裂并向外运动，同时分化。最终这些细胞经历一个特殊形式的死亡过程：细胞核解聚，细胞萎缩成充满角蛋白的扁平鳞片形式，这种鳞片最后从体表上脱落。

通常，一种类型的干细胞可以产生几种类型的分化后代：例如，小肠的干细胞可以产生吸收细胞、杯状细胞和其他几种类型的分泌细胞。血细胞形成的过程称作造血作用，是这种现象的一个极端例子。血液里面的所有细胞类型——携氧的红细胞和抵御感染的多种白细胞（图 20-38）——都是由共同的骨髓里面的造血干细胞分化而来的（图 20-39）。

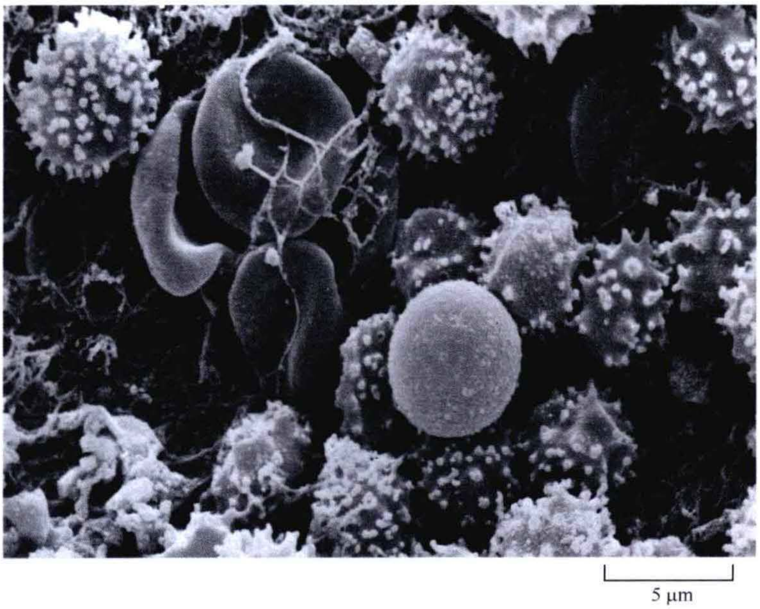


图 20-38 血液中循环着多种细胞类型，均来自单一类型的干细胞。这张扫描电子显微镜照片中，大而圆且表面粗糙的是白细胞；较小且较光滑扁平的是红细胞。（引自 R. G. Kessel 和 R. H. Kardon，Tissues and Organs：A Text-Atlas of Scanning Electron Microscopy. San Francisco：Freeman，1979. 蒙 W. H. Freeman and Company 惠许）

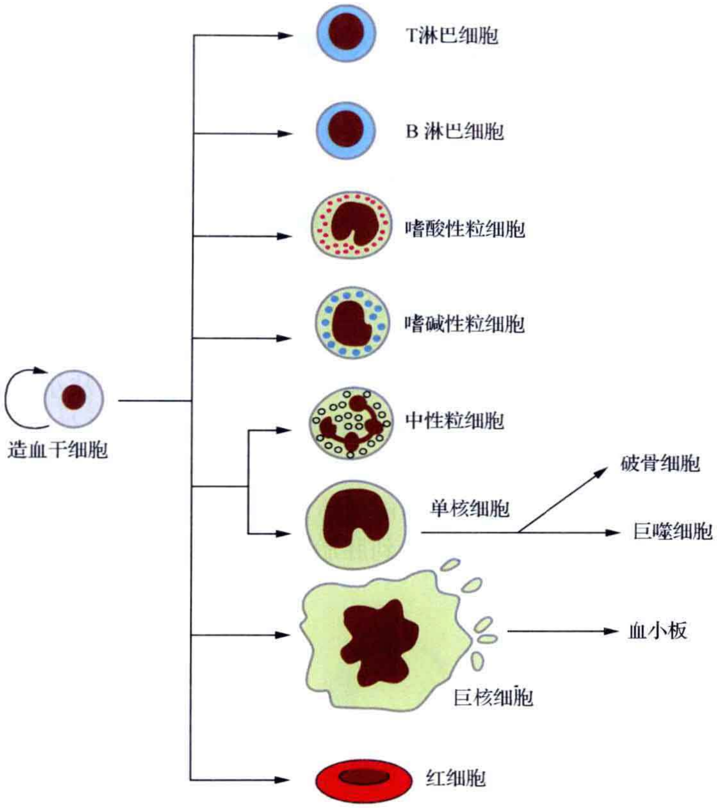


图 20-39 一个造血干细胞分裂产生更多的干细胞以及前体细胞（图中未显示），前体细胞增殖并分化成循环系统中各种成熟的血细胞类型。在体内许多组织中可看到的巨噬细胞、能消化骨基质的破骨细胞以及未在此图中画出的其他一些组织类型的细胞均出自同一来源。血小板来自巨核细胞（视频 20.5）。在这个细胞谱系中，大量不同的信号分子在不同阶段起作用，控制每种细胞的产生并使干细胞维持合适的数量。

20.3.4 特殊信号维持干细胞群体的数量

每一个干细胞群体里面都有一套调节干细胞产生地点和产生数量的控制机制。这种控制机制取决于干细胞及其后代与周边组织之间的信号分子交换。这些信号分子以及它们行使作用的生化通路隶属于数量很少的几个分子家族，约为 6 个基本的信号通路，有一些我们在第 16 章讨论过。这些信号通路以不同的组合在胚胎和成体内反复起作用，不同情况下产生不同的效应。

几乎所有这些信号通路家族都对维持像小肠中的干细胞系统的复杂结构起作用。Wnt 信号通路在小肠内的作用就是一个例子：一类被称为 **Wnt 蛋白**的信号分子维持着小肠隐窝底部干细胞和前体细胞的增殖。这些干细胞和前体既分泌 Wnt 蛋白又表达 Wnt 信号蛋白受体，通过它们之间的正反馈作用，刺激细胞自身不断分裂（图 20-40）。同时，这些细胞也表达其他信号分子，大范围地抑制 Wnt 信号通路在小肠隐窝之外的地方活化。而这些在小肠隐窝内的细胞又在相互之间交换其他信号分子来调节细胞的多样性，其中的一些分化成了分泌细胞而另

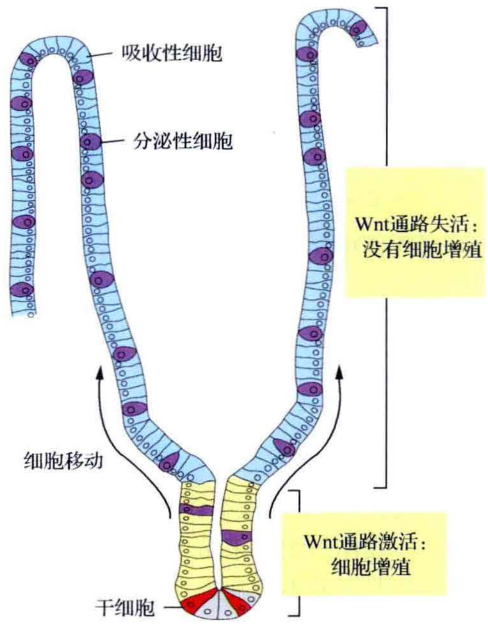


图 20-40 Wnt 信号通路协助调控小肠中的干细胞产生分化细胞。Wnt 信号维持隐窝内细胞的增殖。干细胞驻扎在隐窝内，其后代在隐窝中决定其将来的分化命运。

一些分化成吸收细胞。

一旦这些信号机制被打乱，肠的组织结构就会遭受破坏。人类最常见的一种肠癌就是 Wnt 信号调节缺陷引起的，后面我们会讨论到。

20.3.5 干细胞可以修复受损的组织

由于干细胞可以无限增殖并产生分化的后代，因而它们既可以帮助组织更新也可以修复在伤害中破损的组织。例如，将造血干细胞输入一只自身的造血干细胞已经因辐射而摧毁的小鼠体内，那么这些输入的造血干细胞可以重建小鼠体内的血液系统，避免其死于贫血或感染。同样的道理，人类由于辐射(或细胞毒素药物)致白血病后，也可以通过骨髓移植治疗。

从成体组织内直接取得的干细胞很有希望可用于组织修复，而另一种最初通过在小鼠体内的实验而得到的干细胞，可能有更大的应用前景。我们可以用体外细胞培养的方法，从小鼠早期胚胎得到一类特别的干细胞，这就是**胚胎干细胞**，或称为 **ES 细胞**。在合适的培养条件下，这群细胞可以保持无限增殖并维持无限制的发育潜能，也就是多能性。如果培养中的胚胎干细胞再移植到合适的胚胎内，这些胚胎干细胞能发育成动物个体的所有组织和细胞类型，包括生殖细胞(图 20-41)。移植到胚胎内的胚胎干细胞能完美地整合到胚胎个体的任意部分，并且表现出该位置正常细胞的特征和行为。

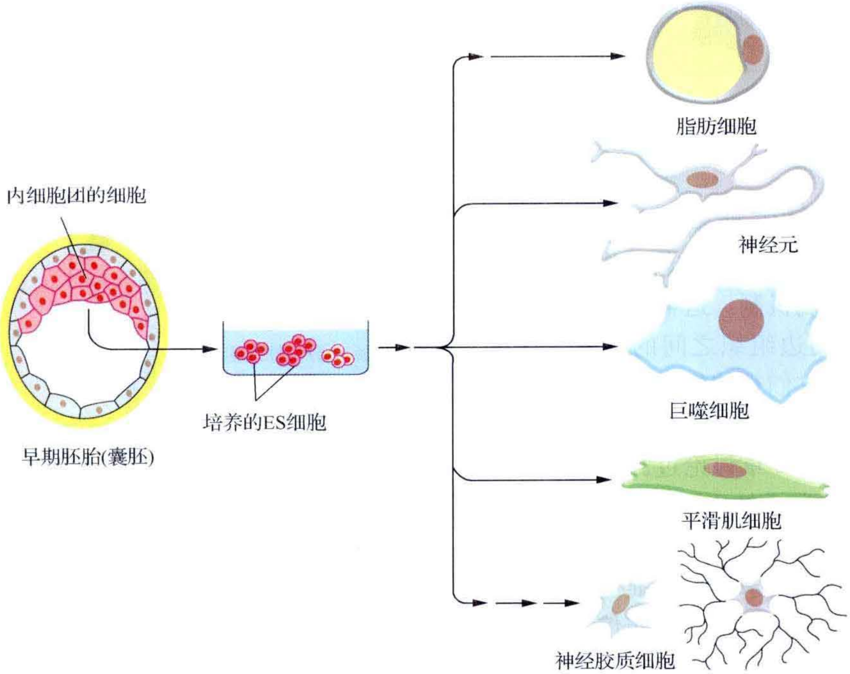


图 20-41 来自囊胚的 ES 细胞可以分化成个体中所有的组织和细胞类型。ES 细胞来自早期胚胎的内细胞团，能够在体外作为干细胞无限维持。若重新放回到囊胚中，ES 细胞将与受体囊胚整合并分化成任何适合其所处环境的细胞类型。同时，ES 细胞可以在体外培养，或是给予不同的激素或生长因子促进其分化成特定的细胞类型(视频 20.6)。(数据基于 E. Fuchs 和 J. A. Segre, *Cell* 100：143-155，2000. 经 Elsevier 惠许)

现在，在早期人类囊胚也能得到与小鼠胚胎干细胞特性相似的细胞群，给替代或修复受损的人体成体组织带来希望。例如，小鼠实验已经显示小鼠胚胎干细胞可以分化为功能性细胞从而代替肌营养不良症患者的骨骼肌纤维、帕金森病患者的神经细胞、1 型糖尿病患者的胰岛素分泌细胞，以及死亡的心肌细胞。也许有一天，胚胎干细胞重演胚胎发育过程，生长为一个完整的生物个体也是有可能的。

然而，想要实现这个梦想，必须弄清楚的障碍还有很多。一个主要的问题是免疫排斥，如果被移植细胞与接受移植患者体内的细胞遗传上不同，那么被移植的细胞将很快被患者免疫细胞

排斥和破坏。解决这个问题的一个可能途径我们接下来要介绍到，它一般被通俗地叫做“治疗性克隆”。

20.3.6 治疗性克隆提供了一条产生个体化ES细胞的途径

由于许多不同的事件被简称为“克隆”，这个名词被使用得比较混乱，特别是公众在争论干细胞研究的伦理问题的时候。因而，理解“克隆”这个名词的不同意义显得尤为重要。

生物学家将“克隆”这个名词定义为一群遗传上等同的个体，它们都是从同一个个体产生的后代。最简单的克隆是细胞克隆。因此，我们能从皮肤上获取一个表皮干细胞，然后进行培养让其生长及分裂，获得大量遗传上一致的表皮细胞。随后，它可以用来重建严重烧伤患者的皮肤。这类克隆仅仅是一个人工方法的细胞扩增，它模拟了在正常人体中细胞增殖和修复的过程。

整体的多细胞动物的克隆，我们称之为**繁殖性克隆**。它是一个完全不同的过程，其中涉及了对常规的自然进程的根本性改变。正像我们在第19章所讨论的，通常每一个动物个体都有一个母亲和父亲，并且它与父母双方的任何一方在遗传学上都不一致。在繁殖性克隆过程中，我们避开了对两个父母以及有性结合的需求。在哺乳动物中，我们已经应用核移植技术成功获得了克隆小鼠、绵羊和一些其他家畜动物。实验过程从一个未受精的卵细胞开始，首先吸出单倍体配子细胞的细胞核，再将来源于正常二倍体细胞的细胞核注入。而这二倍体的供体细胞可以从成年个体的组织中获取。在卵细胞的细胞质中含有二倍体供体细胞核的杂交细胞能够在培养很短的时间后进行发育。这些杂交细胞的一小部分能够发育成为早期胚胎，随后早期胚胎被放入代孕母亲的子宫中(图20-42)。如果幸运的话，胚胎能够像正常细胞一样继续发育，最终发育成为一个全新的动物。通过繁殖性克隆产生的个体在遗传学上应该是与提供二倍体细胞的成年个体一致(除了一小部分存在于线粒体中由卵细胞的细胞质遗传的信息)。

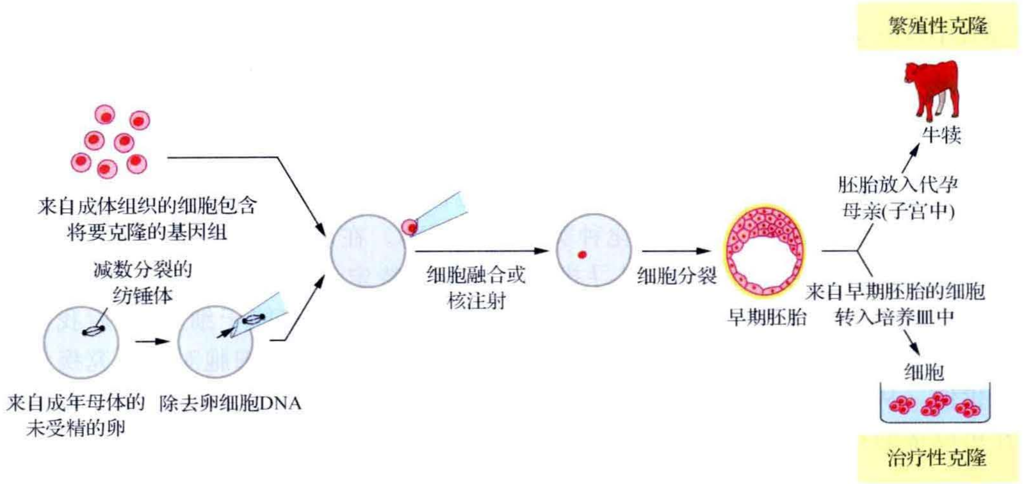


图20-42 来源于成体组织的细胞能够被用于两种完全不同意义的“克隆”。生殖性克隆产生一个全新的多细胞个体；而在治疗性克隆中仅制备细胞。在这里显示的流程中，这两个过程都从核移植开始：来自于成体细胞的细胞核被移植到卵母细胞的细胞质中，以制备具有胚胎特性但携带成体细胞遗传信息的细胞。

与前面的描述不同的是，另一个用核移植技术制备胚胎干细胞的程序(图20-42)。在这种情况下，接受细胞核移植的细胞会经过最早期的胚胎发育，发育成含有大约200个细胞的早期胚胎。但是这类胚胎并不会被移植到代孕母亲的子宫内。相反，这类胚胎会被用作获取胚胎干细胞的来源。这些胚胎干细胞能够为组织修复提供不同类型的细胞。这种被称为**治疗性克隆**

的方法是一门非常精细的技术，它可被用于制备个体化胚胎干细胞，而不是整体动物克隆。因为应用这种技术路线获得的细胞在遗传学上是与最初的供体细胞完全一致的，所以它们能够被移回提供供体组织的成年个体身体中，而无需担心免疫排斥反应。核移植技术是非常难以掌握的，而且在人类卵细胞中核移植技术仍没有获得成功。试验过程需要提供人类卵细胞。这些卵细胞必须由妇女捐献，因此这产生了严重的伦理学问题。事实上，在一些国家里对人类卵细胞进行核移植是违法的。

最近的一种替代方法回避了这些伦理学问题。在这个方案中，先从成人组织中获取细胞，再进行培养，然后通过人工的方法导入一组特定的基因使细胞重新编程变为胚胎干细胞样细胞。基因的导入是使用经基因修改过的病毒作为载体。研究者已经发现仅三个基因的表达(*Oct3/4*，*Sox2* 及 *Klf4*)就足以将成纤维细胞转变为具有所有胚胎干细胞特性的细胞，包括它能够以各种方式进行分化以及能发育成为任何类型的组织(图 20-43)。这些胚胎干细胞样细胞被称为**诱导多能干细胞(iPS cell)**。但是细胞的转化率是很低的——仅一小部分成纤维细胞能够进行转化，并且人们对于将病毒感染过的细胞移入患者体内的安全性也存在着很大的担心。所以在此项方案能够被用于治疗人类疾病之前仍有许多的工作需要继续开展。

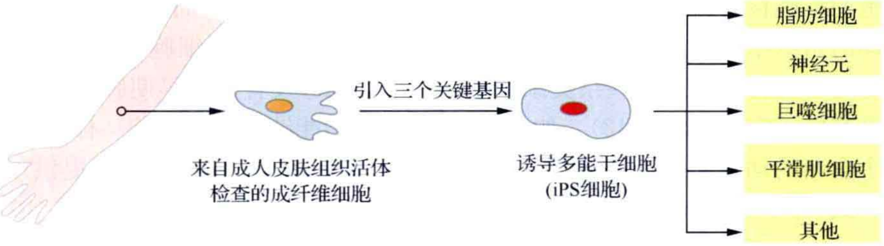


图 20-43　通过直接转化成体组织细胞制备诱导多能干细胞(iPS 细胞)。首先从成体组织中获取细胞(在此例子中为来源于皮肤活检的成纤维细胞)，然后进行培养。随后，研究者使用经基因修饰过的病毒为载体将一组特定的通常在胚胎干细胞中表达并编码转录调控子的基因导入细胞中。这些基因在宿主细胞中，表达并合成相应的蛋白质。经过几周的培养后，一些成纤维细胞转化为那些外观和行为像胚胎干细胞的细胞，并且与胚胎干细胞一样具有能分化为机体内任何类型细胞的能力。

但是，人类胚胎干细胞尤其是人诱导多能干细胞仍然能够立刻在其他方面发挥其价值。它们能够被用于大量制备某一特定分化种类的细胞群落。在新药的研究中，这些细胞可以用来高通量检测化合物的作用效果，以寻找对人类某一特定细胞类型起有效作用的新药。此外，我们有可能会制备含有患特定遗传疾病患者基因组的诱导多能干细胞，随后我们利用这些特定患者的干细胞去研究能够治疗这种疾病的有效药物。这类细胞对于研究疾病机制也非常有价值。从基础研究水平来看，在细胞培养水平上对胚胎干细胞和诱导多能干细胞进行操作可以帮助我们充分了解一部分尚未解决的干细胞生物学秘密。

20.4　癌症

我们的机体维持自我更新和修复，但也为此付出代价。控制这些过程的精细的调控机制有时会出错，这会导致机体结构被严重破坏。其中最主要的一类疾病是**癌症**。它与传染病、营养不良、战争和心脏病一样已经成为人类死亡的主要因素之一。例如，在欧洲和北美洲，每四个人中就有一人死于癌症。

癌症起因于细胞社会中细胞行为的基本准则被破坏。为了弄清这种疾病的起源和发展并提出治疗方法，我们几乎必须运用我们的每一部分知识，这些知识包括组织中的细胞如何工作

及相互作用。反过来，我们已经获知的许多关于细胞和组织生物学相关的知识，也来自对癌症的研究。在本节中，我们要讨论癌症的起源和机制、促使癌症发展的细胞异常行为的类型以及我们所希望的、运用我们的知识去击败这些行为异常的细胞和疾病的方法。

20.4.1 癌细胞的增殖、侵袭及转移

当机体的组织生长及自我更新时，想要维持一定秩序，那么一般来说每个细胞都必须按照机体的需要调整其行为。当需要特定类型的新细胞时，细胞必须要分裂。当不需要新细胞时，细胞就停止分裂。当需要它存活，它就必须存活。当需要其死亡时，它必须牺牲自我。细胞必须维持其合适的特定性质，必须占据其合适的位置，不能侵入到它不该去的领域。

当然，在一个大的机体中，一个细胞偶然的违规不会对机体产生明显的伤害。但是，当一个细胞的基因改变，而且这种改变使得细胞能继续存活并且能在其不应该分裂的时候进行分裂，产生同样的以自我为中心行事的子代细胞时，一个调控上潜在的灾难性故障就会发生。异常细胞通过持续不断地扩增该细胞群体，组织结构可能会被破坏，最终会波及整个机体。癌症的发生就是这样一种故障。

癌细胞有两个可遗传的特性：癌细胞及其子代：①无视正常的约束进行增殖；②侵入并殖民化预留给其他细胞的领地（视频 20.7）。正是这两种特性的综合作用带来了致命的危险。具有第一特性而无第二特性的细胞会过度地增殖，但是维持聚集成一个单个的团块，形成肿瘤，不过这个时期的肿瘤被认为是*良性肿瘤*，良性的通常能够通过外科手术被完全地切除。只有当肿瘤细胞能够侵袭周围组织时，肿瘤才是癌性的。在这种情况下，肿瘤被称为是*恶性的*。具有这种侵袭特性的恶性肿瘤细胞能够从最初的肿瘤组织中挣脱出来，进入血液循环或者淋巴管，进而在身体的其他部位形成继发瘤（*转移*）（图 20-44）。癌扩散得越广泛，它就变得越难被根除。

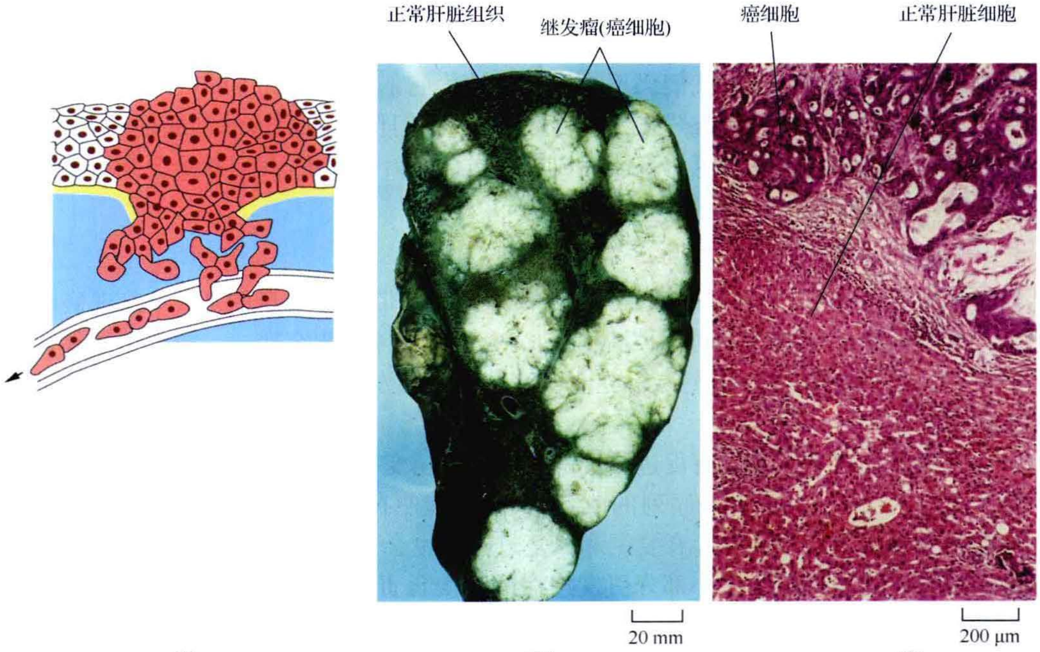


图 20-44 癌症扩散侵袭周围组织。(A) 为了能够在新的部位产生克隆，位于上皮中的原发肿瘤细胞通常必须能够跨过基底层，迁徙通过相连组织，进入血管或淋巴管中。随后它们必须能够从血流或淋巴中退出并在新的部位定居和存活下来；(B) 人肝脏中的继发瘤，来源于最初存在于结肠中的肿瘤；(C) 高倍放大的继发瘤，不同的染色显示正常肝脏细胞和癌细胞的差别。(B 和C 蒙 Peter Isaacson 惠许)

20.4.2 流行病学研究显示癌症发生的可预防因素

预防总是比治疗要好，但是为了预防癌症，我们需要知道癌症发生的原因。是我们周围环境中的一些因素或者是我们生活方式的一些特点触发了疾病并且帮助它进一步发展的吗？如果是那样，那么这些因素究竟是什么呢？对于这些问题的答案主要源自流行病学——通常被用于寻找与疾病发生相关因素的人口统计学分析。这种方法已经提供了强有力的证据表明环境因素与大多数癌症病例的发生有关。例如，常见国与国之间的癌症类型是不同的。对移民者的研究显示，引起致癌风险的通常是人类的居住地点，而不是其出生地。虽然我们仍然难以发现在环境或生活方式中具体是哪些因素重要，而且多数因素我们仍旧不知道，但是有一些因素已经被非常明确的确认。例如，早就有人提出发病于子宫颈上皮细胞的子宫颈癌在已婚妇女中的发病比单身妇女更加普遍。这就表明存在一个与性活动有关的因素。目前，通过现代的流行病学研究，我们获知大多数的子宫颈癌病例会涉及某种常见病毒的亚型感染宫颈上皮细胞，这种病毒被称之为人乳头状瘤病毒。这种病毒是通过性交进行传播的，如果一个人运气不好，这种病毒有时会引起被感染细胞不受控制地增殖。当清楚了这一点，我们就能通过预防感染来预防宫颈癌——例如，进行乳头状瘤病毒疫苗接种。现在，这种疫苗已经上市。如果年轻女性在发生性活动以前进行接种，就能够对其提供高水平的保护。

然而，在绝大多数的人类癌症中，病毒似乎并不起作用：癌症不是一种感染性疾病。但是，流行病学发现了一些其他的影响因素。例如，肥胖症就与发生癌症风险的不断升高有关，而且这种相关性被认为是有因果关系的。然而，在当今世界上，引发癌症最重要的一种环境因素是吸烟。吸烟不仅与几乎所有的肺癌发病有关，而且它也提高了其他几种癌症的发病率，例如，膀胱类癌症。如果能够停止烟草的使用，我们估计能够预防大约30%的癌症患者死亡。目前，还没有其他单独的政策或治疗方法能对癌症死亡率起到如此的作用。

正如我们下面要阐述的，虽然环境因素会影响癌症的发病率并会对一些此类疾病的形成起着关键性的作用，但是总体来说，我们仍不能错误地认为它们是癌症发生的根本原因。无论我们多么努力试图通过健康的生活方式来预防癌症，将来我们仍不能永远的彻底根除它；我们仍总是会面对需要治疗的病例。为了将来能够成功地制订出治疗方法，我们就需要弄清楚癌细胞的生理及肿瘤生长和扩散的机制。

20.4.3 癌症通过突变的累积进行发展

从根本上来说，癌症是一种基因性疾病：它的出现是携带遗传信息的DNA出现病理性改变的结果。与其他遗传性疾病不同，引发癌症的突变主要是体细胞突变——成熟个体体内的细胞发生突变。与此相对的是生殖系突变，这种突变能够通过发育成整个多细胞生物个体的生殖细胞进行遗传。

大多数已确认的对癌症发生有促进作用的试剂都是诱变因素，包括电离辐射及大部分的化学致癌物。它们会引起DNA碱基序列的改变。但是，即使在没有吸烟、辐射以及其他让我们担忧的外在诱变剂的环境里，DNA在复制和修复过程中也会自发突变(第6章)。事实上，除烟草之外的环境致癌物质只能对一小部分引发癌症的突变负责。即使去除了所有这些外在的危险因素，我们还是有可能患癌症的。

虽然DNA的复制和修复有着很高的精确性，但是平均每 10^9 或 10^{10} 个核苷酸复制就会出现一个错误。这一点我们在第6章里讨论过了。这意味着在没有外在诱变剂刺激下，每次细胞分裂中每个基因有大约 10^{-6} 或 10^{-7} 的概率发生自发突变。在人的一生中，人类的机体大约会发生 10^{16} 次细胞分裂；因此在每一个人中，每一个单独的基因都可能在超过 10^9 次细胞分裂时

遭受到突变。从这个角度来看，癌症的问题似乎不是它为什么发生，而是它为什么发生的这么稀少了。

问题的解释是一个正常的细胞转变为癌细胞需要经历不止一次的突变。确切的需要多少次突变目前仍旧在争辩中，但肯定不止 2 次或 3 次。这些突变不会立刻都发生，而是序贯发生，通常跨度会是许多年。

因此，癌症经常都是一种老年性疾病。这是因为一个独立的细胞系需要花费很长时间才能积累大量的突变(图 6-20)。事实上，大多数的人类癌细胞不仅包括了许多的突变而且基因上也不稳定。这种**基因上不稳定性**是因为突变干涉了基因组的精确复制和维持，进而增加了自身的突变比率。有时候，可能是用于修复损伤 DNA 和纠正 DNA 复制错误的蛋白质中的一种蛋白质存在缺陷造成了突变的增加。有时候，可能是检查点机制存在缺陷造成。正常情况下这种检查点是用于阻止 DNA 损伤细胞在完成全部修复前进入分裂(第 18 章讨论)。有时候，可能是有丝分裂中的一次错误。这些缺陷会在癌细胞处理自身 DNA 时形成阻碍，在染色体断裂和重排中这些缺陷经常会被进一步放大。其后的结果就是造成严重的染色体异常和染色体核型的不稳定(图 20-45)。

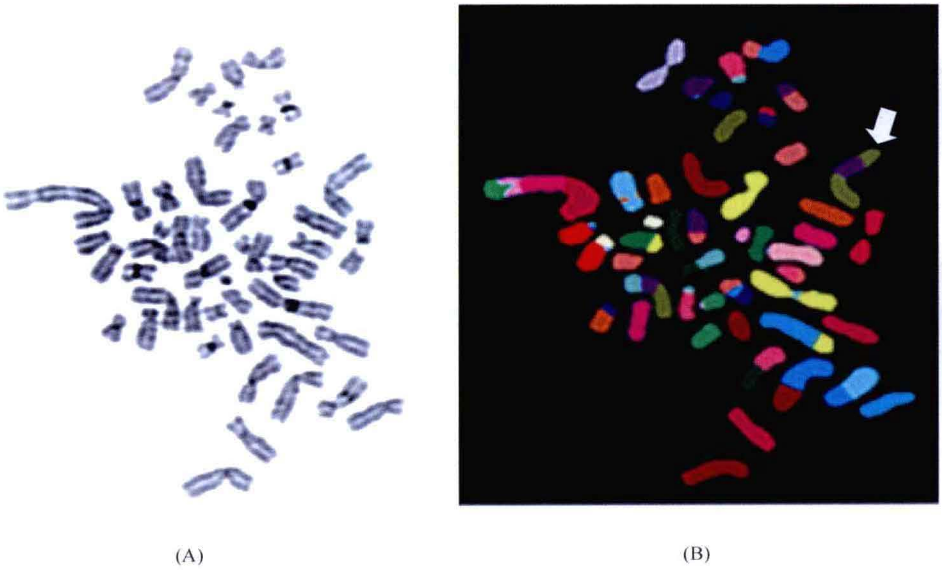


图 20-45　癌细胞经常发生染色体的高度异常，反映其基因的不稳定性。这里的图例显示，中期乳腺癌细胞染色体在玻片上展开，并用(A)一般 DNA 标记物标记或(B)对每个人类染色体染色不同的荧光化合物组合标记。染色结果(用伪彩显示)展示了多个染色体易位。包括一个由两段 8 号染色体(绿色)和一段 17 号染色体(紫色)组成的双易位染色体(白色箭头)。而且染色体核型显示为 48 条染色体，不是正常细胞的 46 条。(Joanne Davidson 和 Paul Edwards 惠赠)

20.4.4　癌细胞进化形成一种能赋予它们竞争优势的特性

引起癌症的突变不会严重损害突变细胞。与此相反，它们会赋予这些突变细胞比周围细胞更大的竞争优势。总体来说，正是突变细胞具有的这些优势会对机体造成灾难性后果。自然选择会偏爱那些携带增强细胞增殖能力和生存能力突变的细胞，而无视其对周围细胞的影响。当癌细胞出现在构成机体的细胞群体中颠倒规则制造混乱时，这个进程达到最高点。当最初的一个突变细胞群体开始生长时，它进化得很缓慢：群体中的细胞成员偶尔发生新的突变，其中的某些会受到自然选择的偏爱(图 20-46)。诸如肥胖等非诱变性的环境或生活方式因素会改变机体

组织中正常运转的选择压力，进而促进癌症的生长。例如，循环系统中的营养素或激素可能会协助那些带有危险的突变的细胞存活和增殖。最后，细胞显现出成熟癌症细胞的全部异常特征。

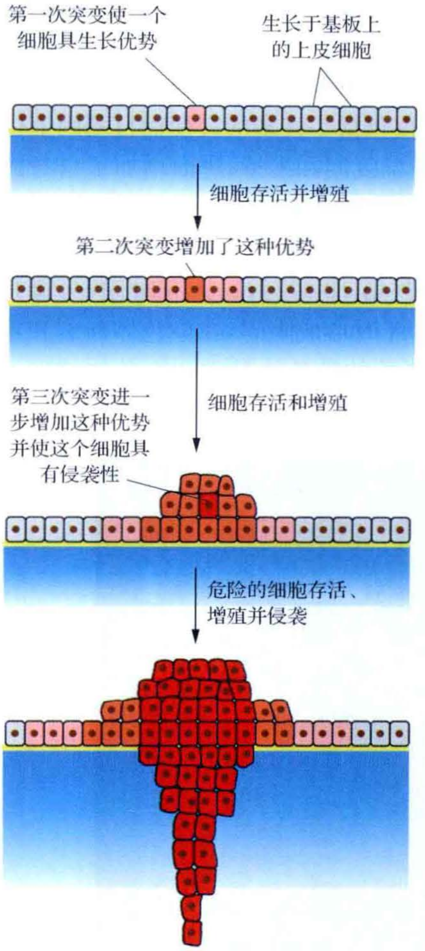


图 20-46 肿瘤通过重复突变和增殖的循环而进化。最终的结果是一个全部由恶性肿瘤细胞形成的克隆。在每一步中，每一个细胞都会经历一次突变来增强它的增殖能力，或者生存能力，或者两者都得到增强。这样一来，这个细胞的子代就会成为肿瘤组织中的优势克隆。该克隆的增殖随后由于细胞数量增加而加速肿瘤往下一步发展，增加再次发生突变的危险。

癌细胞要想获得成功，必须获得一整套的异常特性——一整套的颠覆本领，集中的潜在破坏能力。例如，肠道黏膜上的上皮干细胞必须要经历一些使它能在应该停止分裂时继续进行分裂的改变。这些细胞及其子代细胞必须能够取代其周围的正常的邻居并且能吸引血液供应以便提供营养供肿瘤继续生长。对于这些将来会具有侵袭能力的细胞来说，它们必须要能够消化上皮基底层打通进入下层组织的通道。为了能扩散到其他组织中，即被称为转移的能力（图 20-44），它们必须要能进出血液和淋巴循环并能在新的地方定居存活下来。

不同的癌症有着不同特性。尽管如此，我们仍旧能够列出一些常见的癌细胞关键特性以将它们与正常细胞进行区别。

（1）对于癌细胞来说，它们降低了对于来自其他细胞的生长、存活和分裂信号的依赖。在大多数情况下，这是因为癌细胞带有细胞信号通路元件的突变，而那正是正常细胞对细胞社会信号做出反应所必需的。例如，*Ras* 基因的突变能够在没有细胞外信号的情况下引发细胞增殖的胞内信号出现，而通常它们的产生必须由胞外信号来触发。这就像一个甚至在没有人按的时候也会响的坏了的门铃。

（2）相对于正常细胞，癌细胞不大会通过凋亡发生死亡。癌细胞这种对自杀的背离一般是因为细胞内负责调控死亡程序的相关基因发生了突变（第 18 章讨论）。例如，50%的人类癌症存在着 *p53* 基因的丢失或突变。通常，p53 蛋白是细胞检查点机制的一部分。当细胞的 DNA 损坏时，这种机制使细胞或者停止分裂（图 18-13），或者通过凋亡进入死亡。例如，如果染色体断裂不进行修复，通常细胞就会启动自杀程序；但是如果细胞在 *p53* 基因上有缺陷，那么细胞就可能会存活下来进行分裂，产生高度异常的子代细胞，这些子代细胞能够进一步变成更加恶性的癌细胞。

（3）与大多数正常细胞不同的是，癌细胞经常能无限制地进行增殖。大多数的人类体细胞在培养时仅能分裂有限的次数，随后它们就会永久的停止增殖。这种现象很明显是由于这些细胞不再产生端粒酶，因此它们染色体末端的端粒就会变得很短（见 6.1 节）。而癌细胞通过重新激活端粒酶的合成来维持细胞端粒的长度，打破了这个屏障。

(4) 如上所述，大多数癌细胞是遗传上不稳定的，其基因突变率大为升高。

(5) 癌细胞具不正常的侵袭性，这通常是部分地由于它们缺乏那些让正常细胞固定在自己适宜位置上的特定细胞黏附分子，如钙黏着蛋白。

(6) 癌细胞通常能够在陌生的组织中存活和增殖，进而形成继发瘤(转移)，而大多数正常细胞在错位时都会死亡。我们仍然不确切地了解当赋予癌细胞这种能力时有哪些分子变化是必需的。

为了理解癌症的分子生物学方面的知识，我们必须要能够分辨出那些引发细胞异常行为的基因突变。

20.4.5 基因类型多样化是癌症发生的关键

人们已经使用了各种各样的方法来追踪那些对癌症的发生起关键性作用的基因和突变。虽然我们已经确认了许多与癌症发生相关的重要基因，但对于其他基因的寻找仍旧在进行。

在某些情况下，一些危险性的基因突变会使受影响的基因过度的活跃。这些突变是有主导性的：仅仅一个基因拷贝发生了突变就会带来麻烦，该突变基因被称为**癌基因**(图 20-47A)，相应的正常基因形式被称为**原癌基因**。图 20-48 显示了原癌基因转变为致癌基因经历的各种方式。

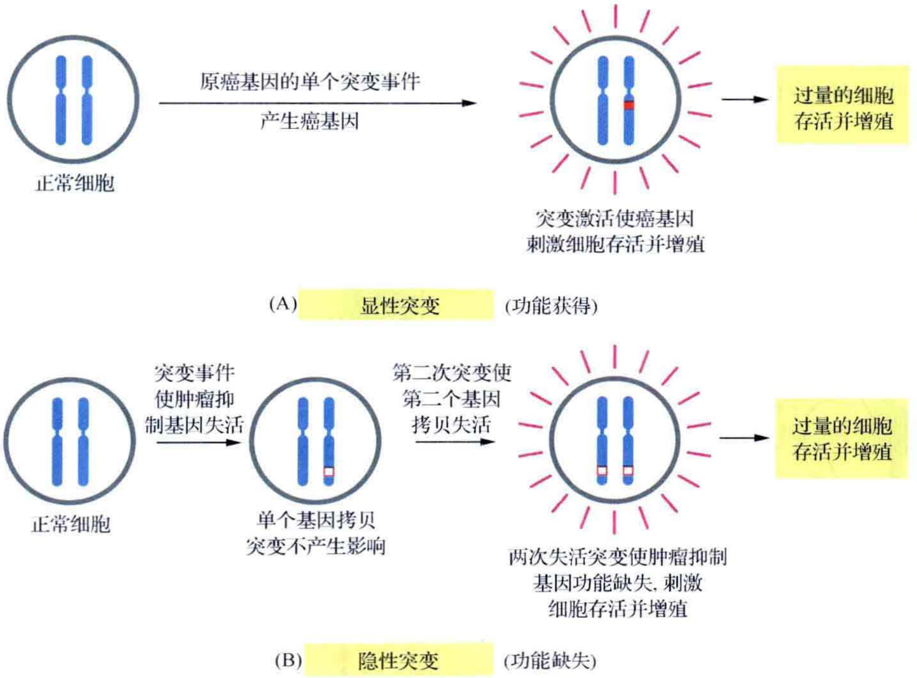


图 20-47 对癌症起决定性作用的基因根据其危险的突变是显性还是隐性划分为原癌基因和肿瘤抑制基因。原癌基因显性遗传：单拷贝的原癌基因功能性突变即可导致癌症发生，而肿瘤抑制基因一般隐性遗传：等位基因功能必须同时缺失才会导致癌症发生。在这个图中，激活变异用红色实心方框表示，使变异失活用红色空心方框表示。

对于其他的基因来说，危险存在于那些会导致基因功能丧失的突变中。这些突变通常都是隐性的：两个基因拷贝必须都丢失或失活才能产生效果，受到影响的基因被称为**肿瘤抑制基因(抑癌基因)**(图 20-47B)。肿瘤抑制基因是在研究人类遗传学时被首次确认的。偶尔，我们会遇到肿瘤抑制基因上遗传了一个突变的人；尽管一个基因拷贝就足以维持细胞的正常行为，但是这些人的细胞离该基因功能的全部丧失仅仅需要突变一步(相对于正常细胞来说则需要发生两步突变)。由于对癌症发生所需的附加突变数量越少，疾病的发生频率就越高，发生的平均年龄就越早，有时会在儿童时期出现。因此带有此类突变的家庭非常容易出现癌症。

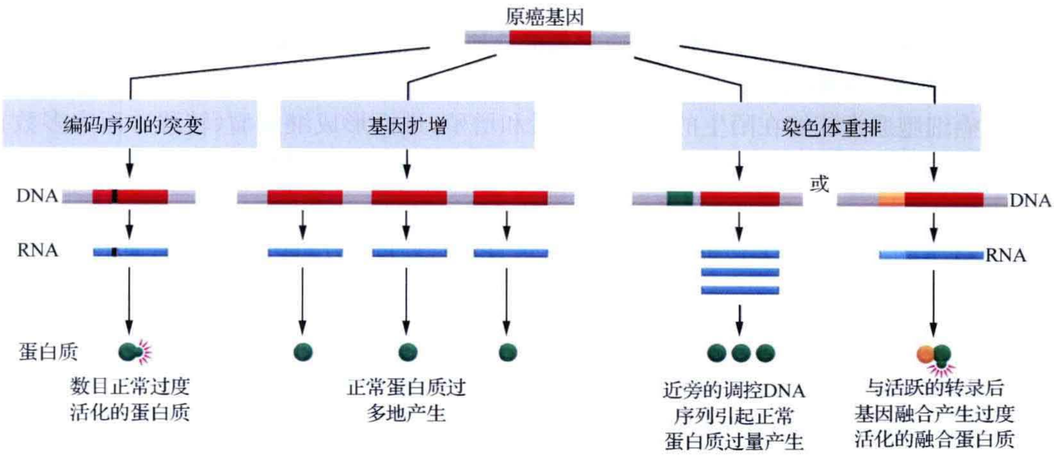


图 20-48 几种类型的基因改变可使原癌基因转变为癌基因。每一种情况的改变都引起基因功能增强。

对应于癌细胞表现出的多种不同类型的异常细胞行为，原癌基因和肿瘤抑制基因的种类是多种多样的。这类基因中的一部分编码生长因子、受体或者是类似 Ras 的一类由生长因子所激活的胞内信号通路成员。另一部分基因编码 DNA 修复蛋白、DNA 损伤应答介质（如 p53）、细胞周期或凋亡调控子。还有一些我们提到过的其他基因编码细胞黏附分子（如钙黏着蛋白）。图 20-49 显示了一些这种多样性的概念。

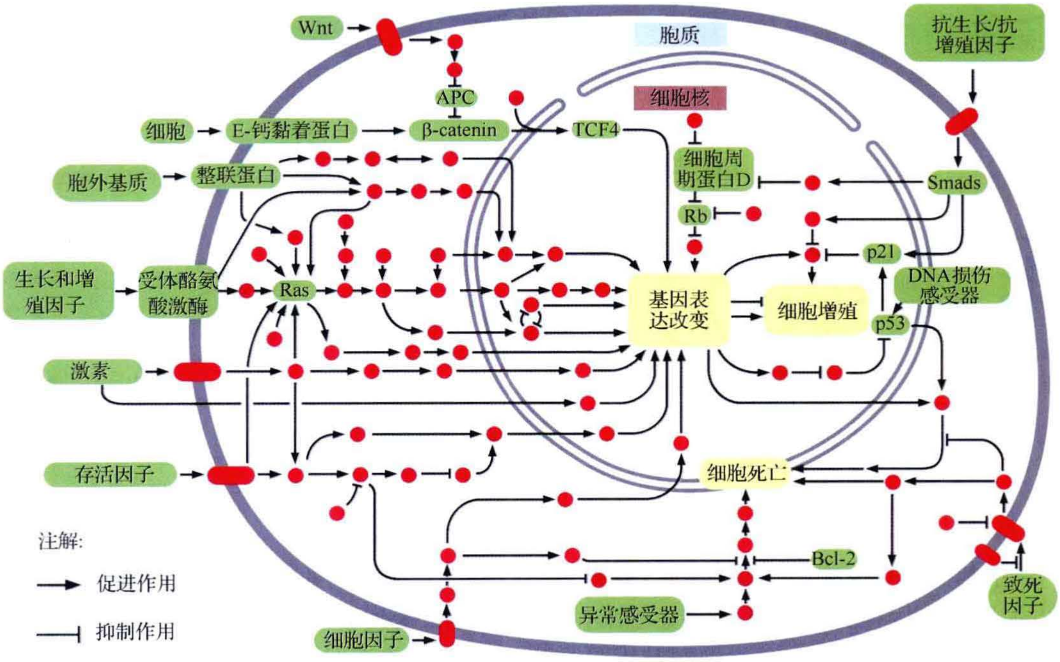


图 20-49 许多基因对癌症的发生至关重要。图示表示的是与人类癌症发生相关的主要信号通路，指出癌症患者体内基因变异所修饰的一些蛋白质在细胞内的定位。原癌基因和肿瘤抑制基因的产物常常出现在同一条信号通路。单个信号蛋白用实心的红圈表示，本书讨论到的癌症决定性组分和控制机制用绿色表示。如注释所说明的，各组分间的促进和抑制性的相互作用分别用箭头和直杠表示。（引自 D. Hanahan 和 R. A. Weinberg, *Cell* 100: 57-70, 2000. 经 Elsevier 准许）

我们如何得知：搞清楚那些对癌症有关键性影响的基因

人们对癌症发生中关键基因的寻找有时是开始于一个具有易发某种特定疾病的遗传性倾向的家族。*APC*(一种抑癌基因，它在肠癌的患者中频繁地缺失或失活)就是在具有肠癌发病倾向的家族中寻找遗传缺陷时所发现的。但是确认基因仅仅是战斗的一半。接下来的事情就是确定这种基因在正常细胞中起什么作用，以及该基因的改变为什么会促进癌症的发生。

从犯

明确一个基因或其编码的蛋白产物在细胞内部的作用不是一项简单的工作。假设我们要分离一种未知蛋白质，且仅知其是一种蛋白激酶。这些信息并不能揭示这种蛋白质在活细胞内的功能。此蛋白质的靶点是什么？在哪种组织内它是活化的？它在生物体生长和发育中有什么功能？我们必须掌握更多信息才能弄清楚它的生化活性是在什么状态下起作用的。

大多数蛋白质并不是独自起作用的，他们与细胞内其他蛋白质一起联合行动。因而想要了解一个蛋白质的功能，可以从找出其伴随蛋白开始。如果一个未知蛋白与功能已知的蛋白相互作用，那么此未知蛋白与已知蛋白很可能在某些功能上是相似的。免疫共沉淀方法(图版 4-3)或许是鉴别紧密结合的蛋白分子的最简易的方法。在这种技术中，我们使用抗体去从裂解细胞的抽提物中捕获和沉淀特定的目标蛋白。如果这种目标蛋白与另外一种蛋白紧密地连接，那么该伴侣蛋白会被一起沉淀下来。正是采用这种方法鉴别得到了 APC 蛋白。

两组研究者使用抗 APC 抗体从培养的人类细胞提取物中分离蛋白。抗体捕获了 APC 蛋白及另一种蛋白。当研究人员检测这种伴侣蛋白的氨基酸序列时，他们辨识出了 β-catenin。

最初，APC 与 β-catenin 的相互作用引导我们错误地判断 APC 蛋白在肠癌中的作用。在哺乳动物中，β-catenin 主要是由于它在细胞间的黏附连接中的作用而被我们所熟知。它作为一种衔接物将跨膜的钙黏素分子与细胞内肌动蛋白细胞骨架相连(图 20-24)。因此，一段时间以来，科学家们都认为 APC 蛋白可能参与细胞的黏附。但是最近几年发现 β-catenin 还有另一种完全不同的功能。APC 蛋白与 β-catenin 的相互作用是以一种根本不同的原因而在癌症发生中起重要作用的。

无翅果蝇

在我们发现 APC 蛋白能结合 β-catenin 前不久，研究果蝇的发育生物学家们就已经发现人类的 β-catenin 蛋白的序列与一种被称为 Armadillo 的果蝇蛋白相似。Armadillo 是一种在果蝇的正常发育过程中有重要作用的信号通路中的关键蛋白。这条通路能够被一个称为 Wnt 蛋白的信号分子家族所激活。Wnt 基因家族的基本成员根据其突变表型而被称为无翅基因(wingless)。Wnt 蛋白与位于细胞表面的受体结合，启动细胞内的信号级联反应，最终引起一组参与细胞生长、分裂及分化的基因被活化。这条通路中任何一种蛋白质发生突变都会引起果蝇发育上出现缺陷，导致果蝇的机体发育失败。最低程度的突变会使果蝇发育成为无翅果蝇，而大多数的突变都导致胚胎死亡。但是在任何情况下，看起来都是通过影响基因表达而造成伤害的。这种现象表明 Armadillo 不仅仅是细胞黏附结构中的小角色，而且还能以某种方式来调控基因的表达。

发现和研究 Wnt 通路的工作集中在果蝇上。但是有证据表明在诸如小鼠和人类等脊椎动物中也有一组相似的蛋白质调控着发育的多个方面。事实上，Wnt 信号通路中的一部分蛋白质在果蝇和脊椎动物之间功能上几乎可以互换。β-catenin 与细胞基因表达的直接的相关性是从哺乳动物细胞的研究中获得的。正如我们用 APC 蛋白作为“诱饵”通过免疫沉淀捕获其伴侣蛋白 β-catenin 一样，我们也可以使用 β-catenin 作为诱饵去捕获因果关系链中的下一个蛋白质，结果发现了一个转录调控子 LEF-1/TCF，或者缩写成 TCF。而在果蝇的 Wnt 通路中也发现了这个转录调控子。果蝇遗传学和哺乳动物细胞生物学的结合揭示了基因调控机制是如何工作的。

Wnt 通过促进“游离”的 β-catenin 蛋白(或为果蝇中 Armadillo)的积累来传递通路的信号，即不固定在细胞连接处的 β-catenin。它会从细胞质迁移到细胞核中，在那里它与 TCF 转录调控子结合，形成一个复合物来

激活各种 Wnt 响应基因的转录，包括那些促进细胞增殖的基因(图 20-50)。

APC 蛋白调控 Wnt 通路的活性的办法是促进β-catenin 蛋白的降解，以防止它在没有接收到 Wnt 信号时去活化细胞内的 TCF(图 20-50)。APC 蛋白的缺失引起β-catenin 蛋白浓度上升，从而激活 TCF，造成 Wnt 响应基因甚至在没有 Wnt 的情况下就被开启。那么，这种情况如何引起肠癌发生呢？为了找到原因，研究者转向研究 TCF4 小鼠。TCF4 是在肠被覆上皮特异表达的 TCF 基因家族中的一员。

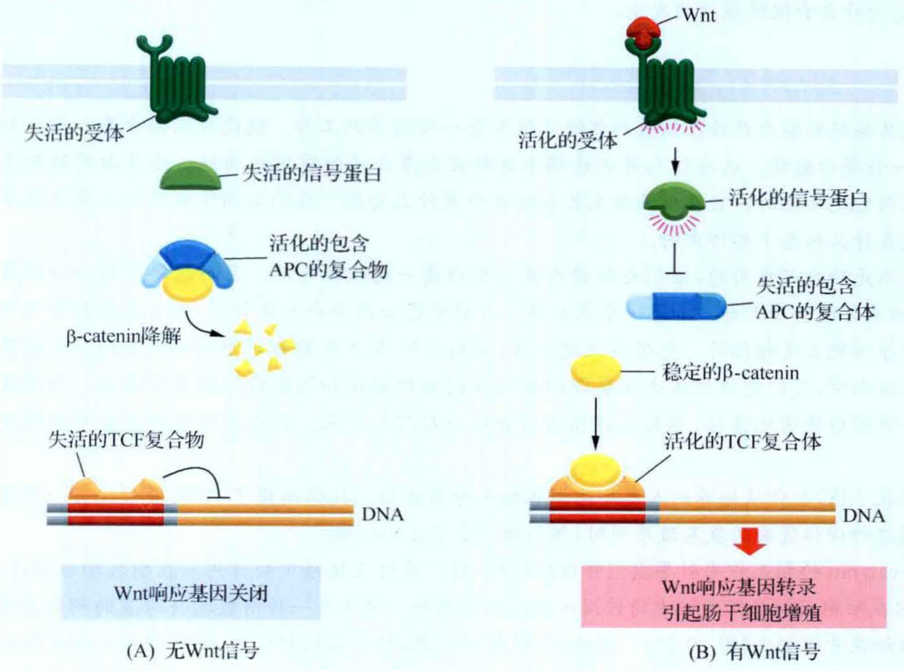


图 20-50 当细胞未暴露于 Wnt 蛋白的时候，APC 蛋白保持 Wnt 信号通路处于非活化状态。通过促进 β-catenin 的降解来达到。当 Wnt 蛋白出现或活化的 APC 消失的时候，游离的 β-catenin 增多并和转录调控因子 TCF 一起驱动 Wnt 目标基因转录，导致小肠隐窝内的干细胞增殖。在结肠中，阻止 APC 活化的突变引起 Wnt 信号通路过量激活，进而引起肿瘤发生。

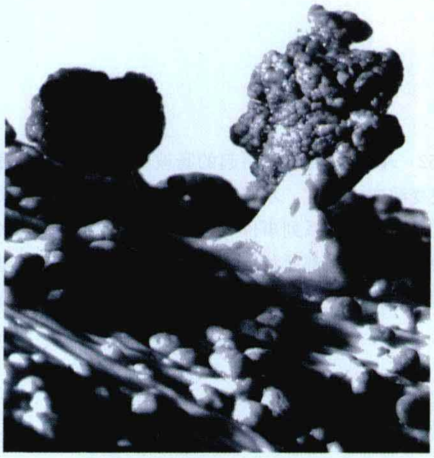
话说隐窝

虽然听起来不太直观，发现一个基因功能的最直接的方法之一就是去看看当这种基因缺失时生物体会出现什么情况。只要我们能确切指出被破坏或受损害的事件，我们就可以开始破译这个基因的功能。

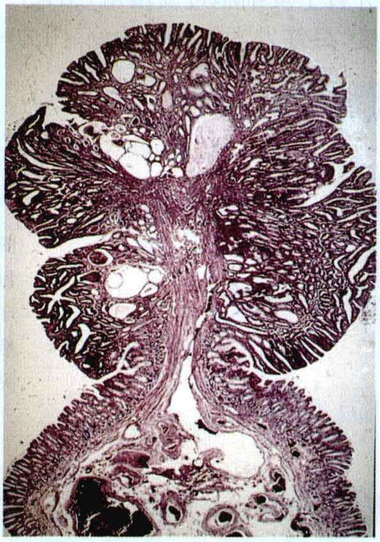
基于这种想法，研究人员制造出了 TCF4 编码基因敲除的小鼠，这种基因敲除突变是致命的：缺少 TCF4 蛋白的小鼠出生后不久就会死亡。但是在这些动物肠道内发现一种研究人员感兴趣的异常现象。肠隐窝完全不能发育，但隐窝内含有负责更新肠被覆上皮细胞的干细胞集落(图 20-36)。研究人员推断 TCF4 蛋白通常负责维持肠干细胞集落的增殖。

当 APC 蛋白缺失时，我们看到了“硬币的另外一面”：没有 APC 去促进 β-catenin 的降解，它就大量堆积并与 TCF4 转录调控子结合，使 TCF4 响应基因被过度活化。这样一来，肠干细胞异常增殖并引发肠息肉。分化的子代细胞不断产生并被丢弃到肠腔，但是，隐窝内的细胞群落增殖得太快了，丢弃的速度跟不上。结果是隐窝扩大、隐窝数量增多。不断增大的组织凸起进入肠腔中形成息肉(图 20-51)。息肉还需要进一步的突变才能使这种原发肿瘤转变为有侵染性的癌。

60%以上的结直肠肿瘤存在 *APC* 基因突变。值得注意的是，在保有 APC 蛋白功能的少数几种肿瘤中，约 1/4 有 β-catenin 的活化型突变。这些突变使 β-catenin 蛋白对降解有更强的抵抗力，因此就产生了与 APC 蛋白缺失同样的效果。事实上，增强 β-catenin 活性的突变已经在诸如黑色素瘤、胃癌和肝癌等各种其他类型肿瘤中发现。因此，Wnt 信号通路为突变提供了多个靶点，从而刺激癌症的发生发展。



(A)



(B)

图 20-51 结肠癌的发展常常始于肿瘤抑制基因 APC 缺失而导致的息肉生长。(A) 一个遗传性 *APC* 突变的患者的结肠被覆上皮中,可以看到数以千计的小个体息肉,有个别体积较大(基因正常的人的结肠中一般可发现 1~2 个息肉)。如果这些组织不用手术去除的话,其中一些息肉经过进一步突变可变成恶性的癌;(B)一个息肉的横切面,注意大量的深深折叠的上皮,对应于隐窝内充满的异常增殖的细胞。(A 蒙 John Northover 和 Cancer Research UK 惠许;B 蒙 Anne Campbell 惠许)

20.4.6 肠癌显示基因的缺失如何引起肿瘤的生长

肠癌为我们提供了一个研究充分的病例来显示:①抑癌基因如何被鉴别;②如何通过对肿瘤抑制基因的鉴别帮助我们理解常规类型肿瘤的基本分子机制。肠癌起源于结肠和直肠内衬的上皮细胞;大多数的肠癌好发于老年人并且没有任何明显的遗传原因。但是,一小部分属于极易发病家族的患者很早就会生此病。通过对一组家庭的研究,我们发现易患癌症的体质根本原因是遗传了一种发生于 DNA 修复酶的突变,如我们在第 6 章所讨论的那样。在另一类的遗传性肠癌患者中,存在一种不同的突变,引发产生了明显不同的表型。受影响的个体在成年早期就会出现癌症。最初的征兆是在他们的结肠或直肠的被覆上皮上,长出了成百上千个小肿瘤样的息肉,预示着肠癌开始发病。通过对家族的研究发现,异常的原因可以追溯到一种称为腺瘤性结肠息肉病(APC)基因的缺失或失活。受到影响的个体因遗传获得一个突变的基因拷贝和一个正常的基因拷贝,而癌症起源于那些细胞中的正常基因拷贝也突变失活的体细胞。但是对于大部分患者来说他们遗传了两个正常 *APC* 基因拷贝,没有遗传条件或任何明显癌症家族遗传史,他们又是如何发病的?当我们对这些人的肿瘤进行分析后发现,在超过 60%的病例中,虽然在正常的癌旁组织中 *APC* 基因的两个拷贝仍存在,但肿瘤细胞中 *APC* 基因的全部两个拷贝都缺失了,很可能经历了两次独立的体细胞突变。

所有这些都明确无误地说明 *APC* 基因是一种抑癌基因。在知晓了它的序列和突变表型的时候,人们开始破译 *APC* 基因的缺失如何启动癌症的发生。正像在"我们如何得知"中解释的一样,我们发现 *APC* 基因能够编码一种正常情况下抑制 Wnt 信号通路的抑制蛋白。像早先所描述的一样,Wnt 信号通路参与刺激肠膜隐窝内细胞的增殖。当 *APC* 基因缺失时,通路处于

超活化状态并且上皮细胞过度增殖,结果产生息肉(图 20-51)。在这个不断增长的组织中会进一步发生突变,最终发生侵染性的癌(图 20-52)。

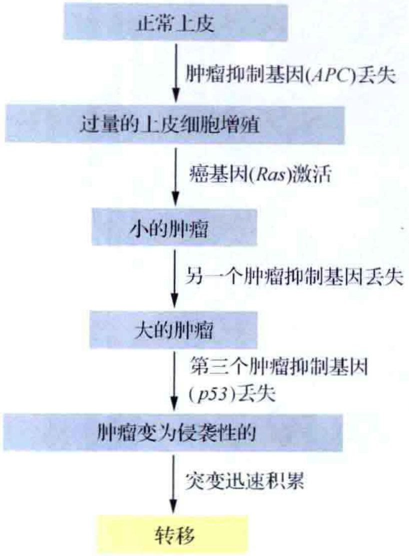


图 20-52 *APC* 基因缺失引起的肠被覆上皮息肉,可通过进一步积累突变演变成癌症。 示意图表示典型的结肠癌发展的突变顺序。这里所示的一系列事件可延续 10～20 年或更长的时间。虽然认为多数结肠癌都是始于抑癌基因 *APC* 缺失,但是接下来的突变却变化多样。事实上,很多结肠息肉并不发展为癌症。

20.4.7 癌细胞生物学的研究开辟了寻找癌症治疗新方法的途径

我们对癌细胞生存、增殖及扩散的机理理解得越多,我们就会有更好的机会找到击败癌症的方法。任务是艰巨的,因为癌症是可突变的,像杂草和寄生虫一样能快速地对企图消灭它们的治疗方法进化出抗性。此外,由于突变是随机出现的,因此每一种癌症的每一个病例都有自己独特的突变基因组合。所以没有一种对每个病人都有效的治疗方法。而且,癌症通常在原发肿瘤达到直径 1 cm 或更大的时候才能被检测到;而那时肿瘤组织已经含有千百万个基因变异的癌细胞,通常这些细胞已开始转移(图 20-53)。

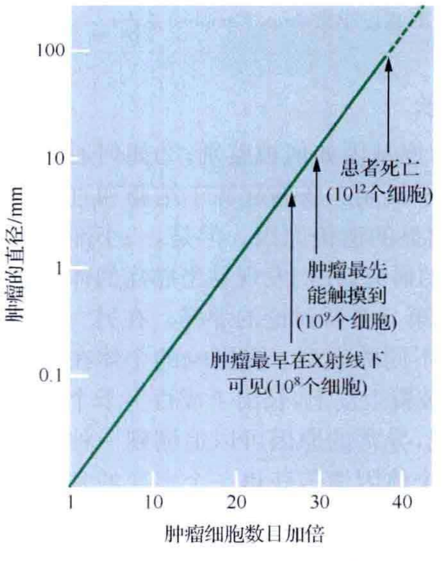


图 20-53 通常肿瘤在长到包含上亿个细胞之前不易被诊断出来。 在这里,典型的肿瘤生长速度用对数尺度标出。需要经历许多年肿瘤才能被注意到,例如,典型的乳腺癌的倍增时间需要经历 100 天。

尽管面临诸多困难,但许多癌症已经可以被有效治疗,而且将来会有更多更好的治疗方法,其前景是光明的。外科手术仍旧是最有效的治疗方法,外科手术技术也一直在提高:多数情况下如果癌症没有远端扩散,患者一般可通过简单地切除癌症组织而得到治愈。若外科手术失败,我们可以根据癌细胞固有特性进行针对性治疗。例如,缺少正常的检测点机制使癌细胞在 DNA 损伤时变为非常脆弱:一个正常细胞在这种情况下会停止增殖,直到其 DNA 损伤被修复,但一个癌细胞可能会不顾一切向前冲,产生的子代细胞由于遗传了一套破损不完整的染色体可能会死亡。很可能由于这个原因,通常放疗或 DNA 损伤化疗处理往往可杀死癌细胞而对邻近的正常细胞损伤较小。

虽然以上方法建立已久,但是人们仍然在如火如荼地寻找更多新的治疗方法。在一些像缺

少检测点的情况下，使癌细胞变得危险的特性也使它变得脆弱，让我们能够用合适的靶向治疗方法将癌细胞杀死。例如，一些乳腺癌和卵巢癌基因不稳定是由于一种参与 DNA 双链断裂精确修复的蛋白（Brca1 或 Brca2）的缺失（见第 6 章）。癌细胞的存活依赖于另一种替代的 DNA 修复方式。某种药物通过抑制这一替代的 DNA 修复通路，来杀死癌细胞，该药物使癌细胞的遗传不稳定性上升到一定水平以致当癌细胞分裂的时候，它们将死于染色体断裂。拥有完整双链断裂修复机制的正常细胞相对来说不会受到药物的影响，因此这种药物几乎没有副作用。

另一种有前景的治疗方法就是阻止通常会进入生长中的肿瘤的新生血管的形成（视频 20.8）。这种方法切断了细胞的血液供应从而抑制肿瘤生长。还有一种策略是利用肿瘤特异的细胞表面分子，以各种方式引导免疫系统来进行靶向攻击杀死肿瘤细胞。接种针对肿瘤特异性分子的疫苗能刺激患者自身的免疫系统抑制肿瘤，而在体外生产抗肿瘤分子的抗体，将其注入患者体内，来消灭肿瘤细胞。

在一部分癌症中，直接针对特定致癌基因产物来阻断其有害行为的方法也将变为可能。在慢性粒细胞白血病（CML）中，癌细胞的异常行为依赖于一种信号蛋白（酪氨酸激酶）的突变。这种信号蛋白突变会导致细胞在不应该增殖的时候进行增殖。一种被称为 Gleevec 的小分子药物能够阻断这种激酶的活性（图 20-54）。治疗结果是非常成功的：在许多患者中，白细胞的异常增殖和存活被显著抑制，从而疾病症状得到缓解。在带有相同基因的其他种类癌症中，该药物也同样有效。

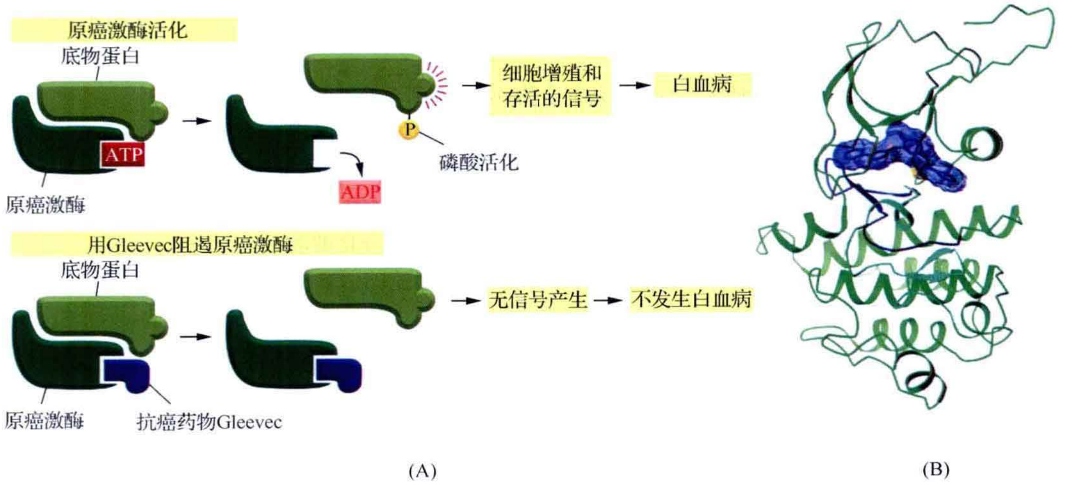


图 20-54 **抗癌药物 Gleevec 阻遏一种癌基因蛋白的活化并阻断一些癌症。**（A）慢性白血病是一种白细胞过度增殖疾病。细胞的病理行为经常是由于特定的突变（一条染色体易位）影响一个编码酪氨酸激酶的称为 *Abl* 的基因。突变产生 *Abl* 基因的癌基因形式，其蛋白产物处于超活化状态，使那些本不该磷酸化的蛋白磷酸化，从而产生细胞内某种信号使白细胞过量产生。抗癌药物 Gleevec 占据了超活化激酶的 ATP 结合区域，阻止超活化激酶从 ATP 上转移磷酸基团至目标蛋白的酪氨酸。这种抑制阻遏了促使细胞增殖和存活的信号传递。对于抵抗其他一些类似于 *Abl* 基因的编码酪氨酸激酶蛋白的癌基因，抗癌药物 Gleevec 也有效果；（B）X 射线晶体结构显示 Gleevec 复合物（实心蓝色）和 Abl 蛋白（带状物）的酪氨酸激酶区域。（B 引自 T. Schindler et al., *Science* 289：1938-1942，2000. 蒙 AAAS 惠许）

通过以上这些例子，我们有理由相信，不久，当我们掌握了最新的分子生物学知识后，我们能够使用有效而合理的方法治疗目前尚不能对付的更多的癌症。反过来，对癌症的关注让我们学到了许多基本的分子生物学方面的知识。对这些知识的应用范围远远超过了癌症治疗，因为这些知识使我们更加清楚地看到整个生命世界的运作方式。

基本概念

- 组织由细胞和胞外基质组成。
- 植物细胞中，纤维素和其他多糖组成的胞外基质以细胞壁的形式把细胞包围起来。
- 裸露的植物细胞很脆弱，但能对包容它的细胞壁施加渗透膨胀压，保持组织饱满。
- 植物细胞壁中的纤维素具有抗拉强度，而细胞壁的其他成分具有耐压性。
- 纤维素沉积的方向控制植物的生长方向。
- 动物的结缔组织由胞外基质和零星分散在其中的细胞组成，提供机械支持。
- 基质中的蛋白质和多糖是由埋在其中的结缔组织细胞(在大部分结缔组织中称为成纤维细胞)产生的。
- 动物细胞的胞外基质中，提供抗拉强度的是一种纤维状蛋白质：胶原蛋白。
- 跨膜整联蛋白把胶原和纤连蛋白等胞外基质蛋白与胞内细胞骨架连接起来。
- 糖胺聚糖(GAG)与蛋白质共价结合形成蛋白聚糖，起空隙填充物作用并提供耐压性。
- 上皮层中的细胞结合在一起，被覆在动物体的所有内表面和外表面。
- 与结缔组织相反，在上皮组织中，张力直接通过细胞连接在细胞与细胞之间传递。
- 钙黏着蛋白家族的蛋白质跨越上皮细胞质膜，并与相邻上皮细胞中的钙黏着蛋白结合。
- 在黏着连接中，钙黏着蛋白在胞内与肌动蛋白丝结合，在桥粒连接中它们与角蛋白丝相连接。
- 在一整片上皮中，一个细胞与另一个细胞的肌动蛋白丝束相互连接穿越上皮层，它的收缩引起上皮弯曲。
- 半桥粒将上皮细胞的基底面附着在基板上，基板是一种特化的胞外基质层。
- 紧密连接将一个上皮细胞与另一个上皮细胞封接起来，阻止水溶性分子穿越上皮层扩散。
- 间隙连接形成通道，允许小分子和离子从一个细胞穿行到另一个细胞中去。植物细胞中的胞间连丝具有相同的功能，但结构与之不同。
- 大部分脊椎动物的组织是各种细胞类型的复杂混合物，必须得到不断的更新。
- 成体生物的结构通过一些与从胚胎到成体发育时期相同的基本过程得以维持和更新：细胞增殖、细胞运动和细胞分化。与胚胎时期一样，这些过程也由细胞通讯、选择性细胞黏附和细胞记忆来控制。
- 新的终末分化细胞通常是由干细胞先产生能增殖的前体细胞而产生的。
- 胚胎干细胞(ES 细胞)可以在体外长期维持并保持向体内任何细胞分化的能力。
- 成人体内的细胞经过人为启动一套关键基因的表达，可以产生类似于 ES 细胞的诱导型多能干细胞(iPS 细胞)。
- 癌细胞不遵循以往维持正常组织结构的细胞社会规则，在不该增殖的时候增殖，在应该死亡的时候存活，并且侵犯不属于它们的组织。
- 吸烟比其他环境诱变因素引发更多的癌症。
- 同一体细胞系中许多突变的积累导致癌症发生。
- 癌细胞在遗传上不稳定，发生突变的概率比正常细胞大，许多癌细胞染色体异常。
- 癌细胞表达端粒酶，使之在正常体细胞应当停止分裂的时候，能够继续分裂。
- 大多数人类癌细胞都显示有 *p53* 基因突变，使之在 DNA 损伤情况下，可继续存活并分裂。
- 促进癌发生的突变或者将原癌基因转变成超活化的癌基因，或者使肿瘤抑制基因失活从而导致癌症发生。
- 有些罕见的有癌症倾向的家族成员中单个拷贝的基因突变是遗传的。通过研究他们的这种突变可以找到肿瘤抑制基因。
- 通过理解某种癌症细胞内的分子异常，我们可以设计出有效的靶向治疗方法。

关键词

Wnt 蛋白	顶端	结缔组织	细胞壁	整联蛋白
Wnt 信号	恶性转移	紧密连接	细胞连接	治疗性克隆
癌基因	钙黏着蛋白	黏多糖	细胞外基质	肿瘤抑制基因
癌症	干细胞	黏着连接	纤连蛋白	组织
半桥粒	基板	胚胎干细胞(ES)	纤维素微纤维	
胞间连丝	基部	桥粒	遗传不稳定性	
成纤维细胞	间隙连接	上皮细胞	诱导型多能干细胞(iPS)	
蛋白多糖	胶原	生殖性克隆	原癌基因	

问题

问题 20-1 在黑暗中生长的幼苗茎中的细胞,使其微管取水平方向排列。你认为这将如何影响这株植物的生长?

问题 20-2 编码胶原蛋白的基因突变往往造成有害的后果,导致严重疾病。改变甘氨酸残基的突变尤其是破坏性的,因为这个蛋白链中每三个位点就必须有一个甘氨酸残基,以保证形成特有的三股螺旋杆(图 20-9)。

A. 如果两个胶原蛋白基因拷贝中仅一个有缺陷,你是否认为这样的胶原突变是有害的?

B. 一个令人不解的现象是:如果甘氨酸残基改变为另一个氨基酸,若它发生在靠近杆形成区域的氨基端,那是最有害的。请作出解释。

问题 20-3 蛋白聚糖的特征是糖基中富含负电荷。如果负电荷不那么丰富,它的特征将有何改变?

问题 20-4 第 17 章介绍过的黏着斑部位是半桥粒的相似物,它也是细胞附着到胞外基质的部位。这些连接在成纤维细胞中很普遍,但在上皮细胞中基本上没有。另外,半桥粒在上皮细胞中很常见而在成纤维细胞是没有的。在黏着斑部位,胞内连接是与肌动蛋白纤维相连,而在半桥粒中则与中间丝相连。你认为为什么这两种细胞与胞外基质的附着是不一样的?

问题 20-5 间隙连接是动态的结构,像普通的离子通道一样,是门控的。它们响应细胞中的变化,可逆地改变构象而关闭通道。如果胞内钙离子浓度上升,间隙连接的通透性可在数秒内下降。请推测为何这种调节形式对组织的健康是重要的。

问题 20-6 为什么电离辐射会阻止细胞分裂?

问题 20-7 你认为为什么被覆肠内面的上皮细胞频繁地更新,而大部分神经元的寿命可达动物的一生那么长?

问题 20-8 尽管成人体内只有 10^{13} 个细胞,但人的一生发生 10^{16} 次细胞分裂。为何这两个数字差别那么大?

问题 20-9 下列哪一种说法是对的,请给出你的解释。

A. 间隙连接将一个细胞的细胞骨架与相邻细胞的细胞骨架连接起来或与胞外基质相连。

B. 一片枯萎的植物叶子可以比作放了气的自行车轮胎。

C. 由于蛋白聚糖坚硬的结构,它可以承受大的压力。

D. 基板是一层特化的胞外基质层,上皮细胞层附着其上。

E. 皮肤细胞不断地脱落,每几个星期更新一次。如果要做永久性的纹身就必须将色素沉积到表皮的下面。

F. 尽管干细胞是未分化的,但它们是决定了的,因而只产生专一的细胞类型。

问题 20-10 你认为下列物质中哪个信号会通过(a)间隙连接,或(b)胞间连丝,从一个细胞扩散到另一个细胞?谷氨酸、mRNA、环腺苷酸、Ca^{2+}、G 蛋白和质膜磷脂。

问题 20-11 讨论下列陈述：如果植物细胞中有中等纤维给细胞提供抗拉强度，它们的细胞壁就是不必要的了。

问题 20-12 通过交换小的代谢产物和离子，间隙连接提供细胞间的代谢和电耦合。为什么你还是认为神经元通讯主要通过突触而不是间隙连接？

问题 20-13 明胶主要由胶原蛋白组成，而胶原蛋白在结缔组织抗拉强度中起主要的作用。商品 Jello 中的主要成分也是它。但是正如你在使用这种草莓香味的化妆品时可能多次体验过 Jello 其实没有抗拉强度。为什么？

问题 20-14 "一个生物的结构是由受精卵所携带的基因组决定的"。这句话的基本依据是什么？事实上，如果你的一个朋友反驳这句话并建议你用人的 DNA 替换鹳卵中的 DNA，来看看究竟长出来一只鹳还是一个人。你将如何回答他？

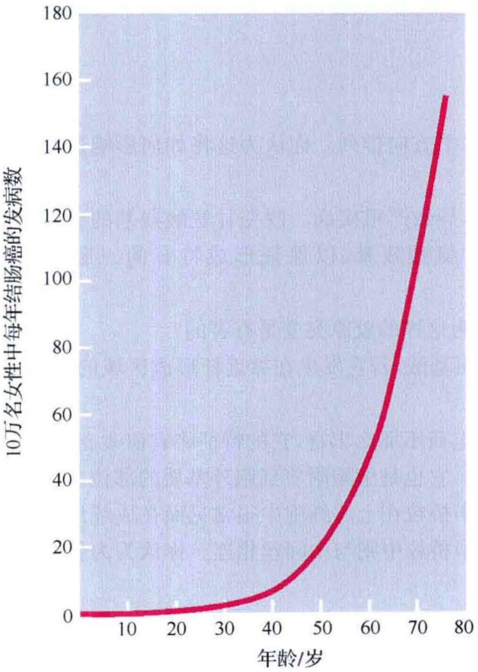


图 Q20-16

问题 20-15 白血病是由一些突变造成的癌症，引起白细胞产生过多。平均发病年龄要早于其他癌症。请提出一个解释来说明为什么会是这种情况。

问题 20-16 仔细观察图 Q20-16。图中显示 10 万名女性中每年结肠癌的发病数目，以年龄为横坐标。如果人的一生中出现突变的频率是相似的，为什么这条曲线如此陡峭弯曲？

问题 20-17 吸烟很凶的人或者在诱导 DNA 突变的化学致癌环境中工作过一段时间的工人通常直到 10 年或 20 年或者更长时间以后才患上与吸烟习惯以及职业相关的癌症。对此长期延迟现象作出你的解释。

问题 20-18 高水平的雌激素会增加某几种形式的癌变，因此早期使用的某些含有高浓度雌激素的避孕药后来不再使用，因为会增加发生子宫被覆上皮癌的危险性。变性的男子使用雌激素制剂使自己具有女性外表，他们得乳腺癌的危险性增大。体内雄激素水平较高的人患其他一些癌，例如，前列腺癌的危险性增加。我们能不能就此推断雌激素或雄激素是致突变的？

问题 20-19 癌症是可遗传的吗？

（徐　兰　译）

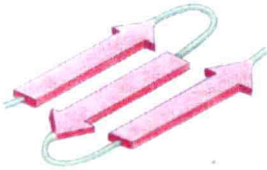
术语汇编

首字母为希腊字母或英文字母的术语分别按希腊字母与英文字母次序排列在前，首字母为中文字的术语按拼音次序排列在后。

α-helix 见：α螺旋

α螺旋 alpha helix(α helix) 蛋白质的普遍的结构模体，其中的氨基酸线性序列折叠成一种右手螺旋，并经由主链原子间的内部氢键来维持稳定。

β折叠 beta sheet(β sheet) 出现在许多蛋白质中的折叠方式，其中多肽链的相邻区相互通过氢键而结合形成一种坚硬且平坦的结构。



γ-微管蛋白环 γ-tubulin ring 中心体蛋白复合物，对微管聚合起成核化作用。

APC 见：后期促进复合物。

ATP合酶 ATP synthase 膜结合的酶复合物，在氧化磷酸化作用及光合作用期间它催化形成ATP。出现于线粒体、叶绿体和细菌中。

A激酶 protein kinase A 见：依赖cAMP的激酶。

Bcl2家族 Bcl2 family 通过调节凋亡蛋白酶的活性来促进或抑制细胞凋亡的蛋白质家族。

CaM 见：钙调蛋白。

Cdk 见：依赖细胞周期蛋白的激酶。

Cdk抑制蛋白 Cdk inhibitor protein 抑制Cyclin-Cdk细胞周期蛋白复合体的蛋白质，主要通过细胞周期的G_1和S期起作用。

cDNA 见：互补DNA。

chromatid 见：姐妹染色体。

C端 C terminus(carboxyl terminus) 多肽链具有一个未被结合的羧基的那一端。

DAG 见：二酰甘油。

DNA(deoxyribonucleic acid) 脱氧核糖核酸，由独立的两条脱氧核糖核苷酸单元的链所形成，充当遗传信息的载体。

DNA复制 DNA replication 由此过程制造出DNA分子的拷贝。

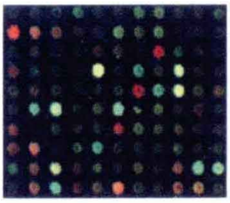
DNA甲基化 DNA methylation 酶促添加甲基基团到DNA的胞嘧啶上。甲基化一般通过吸引抑制基因表达的蛋白质来关闭基因。

DNA聚合酶 DNA polymerase 见：聚合酶。

DNA克隆 DNA cloning 见：克隆。

DNA连接酶 DNA ligase 见：连接酶。

DNA微阵列 DNA microarray 在一个载玻片上，大量短的DNA分子(通常在数万)以有序的方式被固定。这些DNA片段中的每一个均作为某一特定基因的探针，使成千上万基因的RNA产品可在同一时间被监测。



DNA文库 DNA library 克隆的DNA分子的集合，通常代表一个完整的基因组(基因组文库)或代表从一个细胞或组织样品中提取得到的mRNA的拷贝(cDNA文库)。

DNA修复 DNA repair 一些酶过程的总称，这些过程对影响一个DNA分子序列或连续性的那些有害变化进行修正。

DNA转录 DNA transcription 见：转录。

ER 见内质网。

E S细胞 ES cell 见胚胎干细胞。

FAD 见$FADH_2$。

G_1/S-Cdk G_1/S-细胞周期蛋白依赖性激酶 其活性触发进入细胞周期的S期。

G_1期 G_1 phase 真核细胞周期的间期1，介于胞质分裂之末与DNA开始合成之间。

G_1-细胞周期蛋白依赖性激酶 G_1-Cdk 其活性可驱使细胞通过G_1期的细胞周期蛋白依赖性激酶。

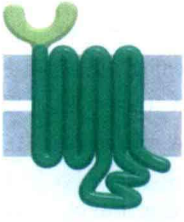
GAG 见：黏多糖

G，ΔG，$\Delta G°$ 见：自由能，自由能变化。

GTP 结合蛋白　GTP binding protein　一种变构蛋白，它的构象取决于它或者与 GTP 或者与 GDP 结合。包括参与细胞通讯的许多蛋白质，如 G 蛋白。

G 蛋白　G protein　GTP 结合蛋白大家族中的一员。GTP 结合蛋白是信号途径中的重要中间体，通常由一个激素或别的配体结合到一个膜受体上而激活之。

G-蛋白偶联受体 G-protein-coupled receptor　因细胞外配体活化受体后与胞内三聚 GTP 结合蛋白(G 蛋白)结合的细胞表面受体。这些受体是 7 次跨膜蛋白。



G_2 期　G_2 phase　真核细胞周期的间期 2，介于 DNA 合成之末与有丝分裂开始之间。

IP_3　见：肌醇 1,4,5-三磷酸。

K_m　底物浓度达到酶活性的最高效率的一半。大的 K_m 值通常表明酶和底物的亲和力较低。

K^+　钾离子，活细胞的主要离子成分。

K　见：平衡常数。

MAP 激酶　MAP kinase　活化的有丝分裂蛋白激酶是从细胞表面受体到细胞核中传递信号起关键作用的蛋白激酶。被称为 MAP 激酶级联的三激酶序列的最后一个激酶。

mRNA　见：信使 RNA。

M 期　M phase　真核细胞周期的一段时期，在此期间染色体浓集，且细胞核和细胞质分裂。

M 细胞周期蛋白　M-cyclin　结合有丝分裂 Cdk 而在 M 期初期形成的 M-Cdk 的细胞周期蛋白。

M 细胞周期依赖性蛋白激酶(M-cdk)　由一个 M-cyclin 和有丝分裂细胞周期依赖蛋白激酶共同组成的活性蛋白复合物，在 M 期开始时形成。

Na^+-K^+ 泵　Na^+-K^+ pump (Na^+-K^+ ATPase, sodium pump)　跨膜载体蛋白，出现于大多数动物细胞的质膜中。它利用来自 ATP 水解的能量，把 Na^+ 泵出细胞，将 K^+ 泵入细胞。

Na^+　钠离子，活细胞的一种主要组成部分。

NO　见：一氧化氮。

N 端(氨基端)N-terminus(amino terminus)　一条多肽链载着一个游离 α 氨基的末端。

p53　对 DNA 损伤的存在作出响应的调节蛋白。防治细胞进入 S 期，直到细胞损伤被修复。

PCR　见：聚合酶链反应。

pH 标度 pH scale　一个溶液其酸度的普通量度。“p”指 10 的幂，“H”指氢，定义为氢离子浓度的负对数，浓度以 mol/L 为单位。因此一个 pH 3 的酸性溶液含 10^{-3} mol/L 氢离子。

PKA　见：蛋白激酶 C。

Rab 蛋白　Rab protein　在运输小泡和细胞器表面上的小 GTP 结合蛋白家族，作为区别每个膜类型的分子标记。Rab 蛋白帮助运输小泡只和正确的膜融合。

Ras　小 GTP 结合蛋白(也称为单 GTP 酶)大家族中的一员，帮助信号从细胞表面受体传递到细胞核。*Ras* 因首先发现在大鼠肉瘤病毒中而命名。

Rho 蛋白家族 Rho protein family　参与可以引起肌动蛋白细胞骨架重排信号的小 GTP 酶家族。

RNA 干扰 RNA interference(RNAi)　由于双链 RNA 分子激活的细胞机制导致含有类似核苷酸序列的 RNA 被破坏。它被广泛用作实验工具，用于防止选定基因的表达(基因沉默)。

RNA 加工 RNA processing　广义地说，RNA 达到成熟形态前的修饰。如对一个真核信使 RNA，该过程包括加帽、剪接和聚腺苷酸化。

RNA 剪接 RNA splicing　在此过程中，在形成信使 RNA 期间，内含子序列被从核内的 RNA 分子中切除。

RNA 聚合酶 RNA polymerase　这个酶催化在一个 DNA 模板上从核苷三磷酸前体合成一个 RNA 分子。

RNA 引物 RNA primer　见：引物。

rRNA　见：核糖体 RNA。

RTK　见：受体酪氨酸激酶。

sER　见：光面内质网。

siRNA　见：小干扰 RNA。

SNARE　膜蛋白家族中的一员，负责小泡与适当的靶膜的选择性融合。

SNP　见：单核苷酸多态性。

snRNA　见：小核 RNA。

snRNP　见：小核核糖核蛋白。

S 期 S phase　真核细胞周期中合成 DNA 的时期。

tRNA　见：转移 RNA。

V_{max}　加入底物至饱和后即刻达到的一个酶反应的最大速率。

Wnt 蛋白 Wnt protein　Wnt 家族的成员，在发育中有

很多作用的细胞外信号蛋白，包括维护干细胞的增殖状态。

X 染色体 X chromosome 哺乳动物中两条性染色体之一。雄性细胞含有一条 X 染色体和一条 Y 染色体，雌性细胞含两条 X 染色体。

X 射线晶体学 X-ray crystallography 通过分析 X 射线穿过蛋白质晶体的衍射图确定蛋白质三维结构的技术。

Y 染色体 Y chromosome 哺乳动物中两条性染色体之一，是雄性特有的(亦见 X 染色体)。

A

阿伏伽德罗常数 Avogadro's number 分子量为 M 的一种物质，其 M g 中的分子数为 6×10^{23}。

癌 cancer 源于突变细胞的疾病。突变细胞脱离了正常的细胞分裂控制，侵入身体组织中并建群。

癌基因 oncogene 使细胞癌变的基因。典型的是参与控制细胞生长与分裂的正常基因(原癌基因)的一种突变形式。

氨基 amino group —NH_2 弱碱性官能团，由氨(NH_3)衍生而来。在水溶液中，一个氨基可以接收一个质子从而带一个正电荷(参见表 2-1)。

氨基端 amino terminus 见：N 端。

氨基酸 amino acid 既含一个氨基又含一个羧基的有机化合物。α-氨基酸(其中氨基与羧基连接在同一个碳原子上)是蛋白质的构建单元(参见表 2-5)。

氨基酸序列 amino acid sequence 在一个蛋白链上线性次序的氨基酸残基。有时叫作蛋白质的一级结构。

氨酰 tRNA 合成酶 aminoacyl-tRNA synthetase 将正确的氨基酸与一个 tRNA 分子结合从而形成一个氨酰 tRNA 的酶。

胺 amine 含有氨基(—NH_2)的分子(参见表 2-1)。

B

半桥粒 hemidesmosome 在上皮细胞和基底膜之间的特殊的细胞锚着连接。

胞间连丝 plasmodesma(复数 plasmodesmata) 植物中的细胞-细胞连接，其中一条覆着膜的细胞质通道穿过相邻的两个细胞的细胞壁上的小孔，连接这两个细胞。

胞吐作用 exocytosis 大多数分泌分子赖以从一个真核细胞输出的过程。分子被包装在膜被小泡内，小泡与质膜融合，将其内含物释放至外界。

胞吞作用 endocytosis 通过质膜陷入，从而将物质摄入细胞之内，导致在一个膜被小泡中的内部化。亦见：胞饮、吞噬作用。

胞外基质 extracellular matrix 由细胞分泌的多糖(如糖胺聚糖或纤维素)和蛋白质(如胶原)的复杂网络。组织的一种结构组分，也影响组织的发育和生理学。

胞饮 pinocytosis 一个细胞以胞吞作用摄取流体(源自希腊语 *pinein*，"饮")。

胞质分裂 cytokinesis 一个植物细胞或动物细胞的细胞质分裂为二，它与细胞核分裂(即有丝分裂)不同。

胞质溶胶 cytosol 充满细胞质主要区室的大、小分子的水溶液。不包括膜被细胞器如内质网和线粒体等。

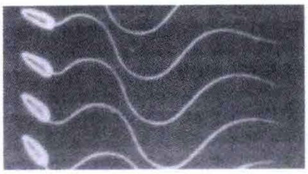
饱和的 saturated (关于一种有机分子的)含 C—C 但不含 C=C 或 C≡C 键。

保守同线性 conserved synteny 基因组中的区段，相应的基因在已比较过的物种中以相同的顺序排列。

报告基因 reporter gene 引入的编码容易被实验性监测其活性的蛋白质的基因。它通常与调控序列连接，然后在其自身基因表达正常情况下将报告基因开启。

被动转运 passive transport 由浓度差或电位差所驱动的小分子或离子的跨膜运动。

鞭毛 flagellum(复数 flagella) 长长的鞭状伸出物，它的鞭打运动在流体介质中推动一个细胞。真核(生物)的鞭毛是纤毛比较长的形式；细菌的鞭毛则完全不同，其结构更简单且更小。



变构的 allosteric 描述一个可因在其非催化位点以外的位点上与一个分子(配体)的结合而显示两种或两种以上构象的蛋白质。有多个亚基组成的变构蛋白常对配体的结合产生协同效应，因为配体与其一亚基的结合有利于配体与其他亚基的结合。

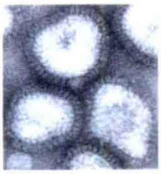
变性 denature 经加热或化学处理引起一个蛋白质或核酸的构象发生剧烈改变。通常导致失去生物学功能。

表观遗传 epigenetic inheritance 叠加在 DNA 序列本身的遗传信息上的信息遗传。通常，信息以一个特定的染色质结构的形式出现(如某组蛋白修饰和 DNA 甲基化)。

表型 phenotype 一个细胞或一个生物可观察到的性质。

丙酮酸 pyruvate 葡萄糖分解形成的代谢产物，为柠檬酸循环和许多生物合成途径提供一个重要关联。

病毒 virus 封装在蛋白质外壳中的由核酸(RNA 或 DNA)组成的感染性颗粒。借寄生于宿主细胞增殖机构上而复制，从宿主细胞释放出新的病毒颗粒，再感染其他细胞。常是疾病的原因。



C

侧链 side chain 一个氨基酸分子中不参与形成肽键的部分，它赋予每种氨基酸为其特有的性质。

常染色质 euchromatin 在分裂间期的细胞内的染色质的两种主要形态中的一种，另一种是异染色质。具有特定组蛋白修饰和相结合的蛋白质的特点，常染色质中的基因通常能够表达。

成膜体 phragmoplast 由微管与膜小泡组成的结构，它在一个正分裂着的植物细胞的赤道区中形成。

程序性细胞死亡 programmed cell death 见细胞凋亡。

持续的 processive 描述一个蛋白质重复执行催化或构象变化任务但始终附着于多聚物，是参与运输的马达蛋白的一个特性，如驱动蛋白(kinesin)。

初级转录物 primary transcript 见:转录。

纯合子的 homozygous 描述一特定基因具有相同的等位基因的生物体。

醇 alcohol 含一个与饱和碳原子结合的羟基(—OH)的有机化合物，如乙醇(参见表 2-1)。

粗面内质网 rough endoplasmic reticulum(RER) 结合着核糖体的内质网部分，参与合成分泌蛋白和膜结合蛋白。

催化剂 catalyst 加速一个化学反应而不改变其自身的物质。酶是由蛋白质组成的催化剂。

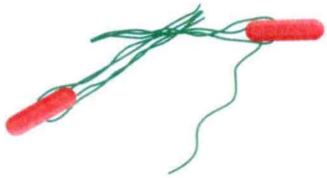
催化作用 catalysis 因某种物质(催化剂)的存在而加快化学反应的速率，但该物质在反应后仍保持不变。在细胞中，实际上所有的化学反应都被催化(由酶)从而在活体的温度下和所需的时间段内得以实现。

存活因子 survival factor 为了阻止程序性细胞死亡而必须存在的细胞外信号分子。

错配修复 mismatch repair 在 DNA 复制中重要的错误纠正机制，是由非互补的碱基对错配("不匹配")引发的。

D

大肠杆菌 *Escherichia coli* (*E. coli*) 在人类和其他哺乳动物结肠中发现的棒状细菌，被广泛用于生物医学研究。



大分子 macromolecule 聚合物分子，如蛋白质、核酸或多糖，其分子量大于几千(希腊语 *makros*,"大的")。

代谢途径 metabolic pathway 一系列由酶催化的反应，其中一个反应的产物是下一个反应的底物。

单倍体 haploid 只具有一套染色体，如在一个精子细胞中或在一个细菌中那样(亦见:二倍体)。

单核苷酸多态性 single nucleotide polymorphism (SNP) 群体中的一部分与另一部分在基因组中有一个核苷酸的差别。

单体 GTP 酶 monomeric GTPase 小型的单亚基 GTP 结合蛋白。这个家族的蛋白，如 Ras 和 Rho，是许多不同的信号转导通路的一部分。

单体 monomer 系小分子，这种小分子与其同类相连接而形成大分子。亦见:聚合物。

单体型块 haplotype block 染色体上等位基因和其他 DNA 标记物的组合，以一个相当大的、互连的模块形式遗传许多代，不受遗传重组的干扰。

胆固醇 cholesterol 带有一个特殊四环甾类结构的脂质分子，是动物细胞质膜的一个重要组分(参见图 11-7)。

蛋白多糖 proteoglycan 一个或多个糖胺链附着于一个核心蛋白组成的分子。

蛋白激酶 C protein kinase C (PKC) 对二酯甘油和钙离子增加做出响应从而磷酸化靶蛋白的激酶。

蛋白激酶 protein kinase 将一个磷酸基从 ATP 转移至一个靶蛋白的特定氨基酸上的酶。细胞含有数以百计的不同的蛋白激酶，它们磷酸化各种不同的靶蛋白群。

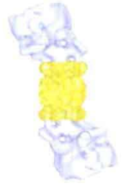
蛋白家族 protein family 机体内具有相似氨基酸序列的一组蛋白质。相似性被认为是反映编码该蛋白的基因的进化，从一个共同的祖先基因通过基因重

复再经过基因分散。通常，一个蛋白家族的不同成员有相关但不同的功能。例如，每个蛋白激酶家族的成员执行类似的磷酸化反应，但对每个酶来说底物和调节都不相同。

蛋白磷酸化 protein phosphorylation 一个磷酸基团被蛋白酶催化共价连接到蛋白质的侧链上。磷酸化通常以某种方式改变蛋白质的活性或性能。

蛋白酶体 proteasome 胞质溶胶中的大型蛋白质复合物。它负责降解胞质溶胶中的一些蛋白质，这些蛋白质通过遍在蛋白化(作用)或其他方法被预先决定予以破坏。

蛋白(水解)酶 protease (proteinase, proteolyticenzyme) 如胰蛋白酶那样的一类酶，它通过水解蛋白质中的一些肽键而降解蛋白质。



蛋白质 protein 组成细胞的主要的大分子。每个蛋白质是由一个或多个肽键以特定的序列连接在一起。多肽链由多肽链折叠成一个该蛋白特有的三维结构并因此具有特定功能。

蛋白质复合物 protein complex 见：复合物。

蛋白质机器 protein machine 以专一的方式互相结合在一起的一组蛋白质分子，在该蛋白质复合体中的集中运转保证了一系列反应以高速高效进行。细胞的大量重要反应被这样的蛋白质机器催化，其中，蛋白质合成和DNA复制是被广为理解的例子。

蛋白质结构域 protein domain 见：结构域。

蛋白质磷酸酶 protein phosphatase (phosphoprotein phosphatase) 经水解作用从一个蛋白质移去一个磷酸基的酶，通常有高度的专一性。

蛋白质水解 proteolysis 依靠蛋白酶的蛋白质的降解。

蛋白质组学 proteomics 蛋白质的大尺度研究。在同一时间研究一个细胞或组织中许多不同的蛋白质。

道尔顿 dalton 分子质量的单位。定义为一个^{12}C原子质量的1/12(1.66×10^{-24} g)。近似等于一个氢原子的质量。

等位基因 allele 一个基因的两个可互换版本之一。在一个二倍体细胞里，每个基因会有两个等位基因，每个占据同源染色体的相同位置。

底物 substrate 由某个酶所作用的物质。

第二信使 second messenger 对细胞外信号发生响应，在胞质溶胶中形成或释放至胞质溶胶中的胞内小分子，如cAMP、IP3和Ca^{2+}。第二信使传播信号至细胞内部。

点突变 point mutation DNA序列中一个单核苷酸对的改变。

电化学梯度 electrochemical gradient 使一个离子穿行过膜的驱动力。这是由膜两边离子浓度差与电位差引起的。

电压控制的通道 voltage-gated channel 这种膜蛋白选择性地让离子如Na^+穿过膜，它因膜电位的变化而开放。主要出现于电兴奋的细胞中，如神经细胞和肌细胞。

电泳 electrophoresis 通过带电量和分子量区分DNA片段或蛋白质混合物的技术。混合物放置于一个多聚凝胶的电场中，分子由于本身的大小和带电量以不同的速度在凝胶中迁移。

电子 electron 带有一个单位负电荷(e^-)的基本亚原子粒子。

电子传递链 electron-transport chain 经一系列的电子载体分子，电子从一个比较高的能级运动到一较低的能级，如在氧化磷酸化作用和光合作用中。

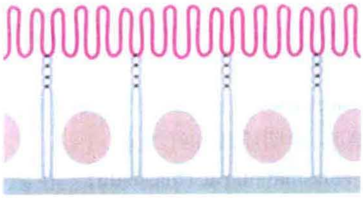
电子供体 electron donor 容易失去电子的分子。在失去电子过程中就说“被氧化”。

电子受体 electron acceptor 容易取得电子的原子或分子；因得到一个电子，就说变成“还原的”。

电子载体 electron carrier 如细胞色素*c*那样的分子，它将一个电子从一个供体分子转移到下一个受体分子。

淀粉 starch 仅由葡萄糖亚基组成的多糖，作为植物细胞中的能量储存。

顶端的 apical 位于一个细胞、一个结构或一个器官的端部。一个上皮细胞的顶端表面是暴露的自由表面(与基底表面相对)。



定点突变 site-directed mutagenesis 在DNA上特定位点进行突变的技术。

动力蛋白 dynein 大型马达蛋白家族中的成员，它沿微管进行依赖ATP的运动。动力蛋白负责纤毛的弯曲。

动粒 kinetochore 在一条有丝分裂染色体上的含复杂蛋白质的结构，微管连接其上。动粒形成于染色体的那个称为着丝粒的部位上。

动态不稳定性 dynamic instability 由处于反复生长与塌缩着的微管所表现的性质。微管通过在它们的

暴露端添加与失去微管蛋白亚基而生长与塌缩。

动作电位 action potential 在一个细胞如神经元或肌细胞的质膜中快速、暂态、自传播的电信号。一种神经冲动。

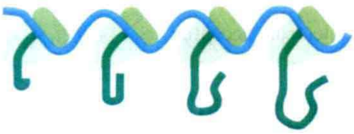
读框 reading frame 一种选择方案，选择如何把核苷酸序列再分成连续的三联体并读作翻译蛋白质的密码子。一个核苷酸序列可以按三个读框中的任何一个读出，这取决于起始点。

端粒 telomere 染色体末端的结构，与一个特殊的DNA序列相联系，这个序列以一种特殊方式复制。（源自希腊语 *telos*，“末端”；*meros*，“部分”。）

端粒酶 telomerase 延伸端粒—在真核生物染色体末端发现的重复核苷酸序列的酶。

对向运输 antiport 膜载体蛋白以相反的方向转运两种不同的离子或小分子，使它们同时或一先一后通过膜。

多核糖体 polysome（polyribosome） 附着多个参与蛋白质合成的核糖体的信使核糖核酸分子。



多态性 polymorphism 一个基因的两个或多个变体（等位基因）或者一个DNA序列变体共存于群体中的状态，而且都较常见。

多肽 polypeptide，polypeptide chain 由多个氨基酸组成的线形聚合物。“蛋白质”是大型多肽，两个名词互相通用。

多肽主链 polypeptide backbone 含重复肽键的线形原子链，这条链穿行于一个蛋白质分子中，其上连接着氨基酸侧链。

多糖 polysaccharide 由糖组成的线形或分支的聚合物，如糖原、透明质酸和纤维素。

多元交叉 chiasma（plural chiasmata） 在减数分裂Ⅰ期可见的两个配对的同源染色体之间的X形连接，代表某个位点的互换。

E

二倍体 diploid 一个含有两套同源染色体的细胞或有机体，每个基因或遗传位点有两个副本。

二级结构 secondary structure 一种聚合物分子常规折叠模式。在蛋白质中，它指的是α螺旋和β折叠。

二价的 bivalent 在减数分裂开始时，一个重复的染色体与它的同源染色体配对。

二聚体 dimer 由两个相同亚基组成的一个结构。当两个亚基不一样时，有时采用名词“异质二聚体”。

二硫键 disulfide bond S—S键，两个半胱氨酸的巯基之间的共价键。连接两个蛋白质或将同一蛋白质胞外区的不同部位连在一起的常见方式。

二酰甘油 diacylglycerol（DAG） 响应细胞外的信号而剪切细胞膜的肌醇磷脂所产生的脂。由两个脂肪链与甘油连接组成，它作为膜上信号分子帮助激活蛋白激酶C。

F

发酵 fermentation 没有分子氧参与的有机分子的分解。这种氧化作用不如有氧过程中那样完全，并产生较少的能量。

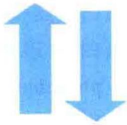
翻译 translation 经这个过程，信使RNA分子中的核苷酸序列指导氨基酸掺入蛋白质；这个过程发生于一个核糖体上。

翻译起始因子 translation initiation factor 促进核糖体与mRNA的正确结合的蛋白质，是起始蛋白质合成所必需的。

反馈抑制 feedback inhibition 代谢控制的一种形式，其中一条酶促反应链的终端产物降低路径中先前一个酶的活性。

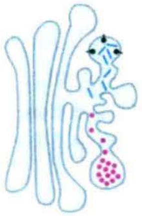
反密码子 anticodon 一种转移RNA分子中的三核苷酸序列，它与一个信使RNA分子上的三核苷酸序列互补。反密码子和共价结合在转移RNA分子上的一个特定氨基酸匹配。

反平行 antiparallel 平行排列，但取向相反。一股DNA双螺旋的两条链便是一例。



反式 *trans* 在另一边；反式。

反式高尔基体网络 *trans* Golgi network（TGN） 高尔基体的这一部分离内质网最远。输往溶酶体、分泌小泡和细胞表面的蛋白质和脂质源自TGN。



反应中心 reaction center 在光合膜中，含有一对专门的可以进行光化学反应的叶绿素分子的蛋白质复合物，将光能沿着光合电子传递链转换为高能传输电子。

反转座子 retrotransposon 一种可移动的遗传元件类型，可以通过先被转录为RNA从而由逆转录酶转录为DNA并在染色体其他位置插入。

范德华力 van der Waals force 由于电荷波动而引起

的弱吸引力，它在两个原子之间相距 0.3～0.4 nm 时起作用。距离更短时，强拒斥力开始起作用。

纺锤极 spindle pole 一个进行着有丝分裂的细胞中一对中心体中的一个。微管从这些中心体辐射出来，形成有丝分裂纺锤体。

非共价键 noncovalent bond 与共价键不同，这种非共价键中无共享电子。非共价键比较弱，但是它们可以合起来产生分子间的高度专一性的强耦合。

非极性 nonpolar 没有任何正电荷或负电荷局域积累的分子。非极性分子一般不溶于水。

非同源末端连接 nonhomologous end-joining 修复双链 DNA 断裂的机制，此时这两个断端无需序列同源性即被拉近接合。

分化 differentiation 指一种过程，细胞在此过程中经历一种变化，成为一种与众不同的特殊性状。

分解代谢 catabolism 一个细胞中酶催化的反应体系，通过它将复杂分子降解为比较简单的分子并释放能量。这些反应中的中间物有时称为分解代谢物。

分离定律 law of segregation 孟德尔推导的遗传第一定律，其中阐明，在配子形成中，母亲和父亲的等位基因彼此分开，在受精过程中再结合。

分裂素 mitogen 一种刺激细胞增殖的细胞外信号分子。

分泌小泡 secretory vesicle 膜被细胞器，供分泌分子在释放之前储存于其中。有时称为分泌颗粒，因为内含物染色深，使这种细胞器呈现为一种小而致密的物体。

分泌(作用)secretion 从一个细胞产生并释放一种物质。

分歧 divergence 由同一祖先序列而来的两个 DNA 序列中因突变累积而产生的差异。

分子 molecule 经共价键连接在一起的原子群。

分子开关 molecular switch 在细胞内信号通路运作的蛋白质或蛋白质复合物，可以在活性和非活性状态间可逆切换。

分子量 molecular weight 用道尔顿表达的一个分子的质量。

辅酶 A coenzyme A(CoA) 一种小分子，在细胞内用于酰基的酶促转移(也见：乙酰辅酶 A，图 3-36)。

附着层 substratum 细胞黏附其上的固体表面。

复合物 complex 一个由一些分子(通常为大分子)经非共价键维系在一起而形成的巨大的大分子结构。蛋白质的集合叫作蛋白质复合物；蛋白质和核酸的集合叫作核酸蛋白复合物。

复杂性状 complex trait 一种不符合孟德尔定律的遗传特性。这些特性基因如身高，通常由多个基因相互作用产生，其中每个基因都以孟德尔遗传方式传递。

复制叉 replication fork 一个正在进行复制的 DNA 分子的 Y 形区，在那里两个亲链分开而两条新的子链被合成。

复制起始位点 replication origin 细菌、病毒或真核生物染色体上开始 DIYA 复制的部位。

G

钙调蛋白 calmodulin(CaM) 小的 Ca^{2+} 结合蛋白。它响应 Ca^{2+} 浓度的变化，调节许多酶及其他蛋白质的活性。

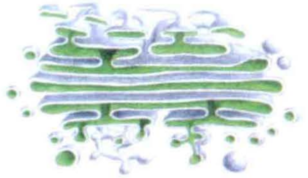
钙/钙调蛋白激酶 Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase (CaM kinase) 一种响应 Ca^{2+} 浓度上升从而磷酸化目标蛋白质的酶，通过与钙结合蛋白(calmodulin)的相互作用实现。

钙黏着蛋白 cadherin 蛋白家族成员之一，在动物组织中调控细胞之间钙依赖黏附的蛋白质。

干细胞 stem cell 可以继续分裂下去的相对未分化的细胞，不断排除终末分化成特殊类型的子细胞。

冈崎片段 Okazaki fragment 在 DNA 复制过程中在滞后链上产生的 DNA 短片段。相邻片段通过 DNA 连接酶快速结合在一起形成一个连续的 DNA 链。

高尔基体 Golgi apparatus 真核细胞中的膜被细胞器，修饰和分选那些在内质网中制造的蛋白质和脂质。以它的发现者 Camillo Golgi 命名。



高能键 high-energy bond 系共价键，它水解时在胞内条件下释放非同寻常的大量自由能。如 ATP 中的磷酸二酯键和乙酰 CoA 中的硫酯键。

功能缺失突变 loss-of-function mutation 降低或消除了一个基因活性的突变。这种突变通常是隐性的：只要保留受影响的基因的一个正常拷贝，机体就可以正常运作。

功能获得突变 gain-of-function mutation 增加基因活性或在不恰当的情况下使基因活化的突变，这样的突变往往占主导地位。

共价键 covalent bond 两个原子之间，由共享一个或

多个电子对而形成的稳定化学连接。

共生 symbiosis 不同种的两个生物之间的密切结合，由此两者取得长期的选择有利性。

构象 conformation 一个分子中原子的空间排列。一个蛋白质或其他大分子的三维精确形状。

古生菌 archaea 两个进化上古老的类群之一，生活在恶劣的环境中，如温泉或高盐度的海水（见细菌）。

固氮作用 nitrogen fixation 大气中的氮掺入含氮有机分子中，由土壤细菌和蓝细菌进行。

寡- oligo- 前缀，用于描述由少量亚基组成的一类物质如短聚物。寡聚物（短聚合物）可由氨基酸（寡肽）、糖（寡糖）或核苷酸（寡核苷酸）组成。（源自希腊语 *oligos*，“少”或“小”）

光合作用 photosynthesis 这个过程由植物和某些细菌用于利用太阳能，以驱动从二氧化碳和水合成有机分子。

光面内质网 smooth endoplasmic reticulum (sER) 内质网中不与核糖体结合的区域，参与合成脂质。

光系统 photosystem 大型多蛋白质复合物，含有捕获太阳能的叶绿素。

过氧化物酶体 peroxisome 小型膜被细胞器，它用分子氧氧化有机分子。其中含有一些产生过氧化氢的酶和别的分解过氧化氢（H_2O_2）的酶。

H

毫 milli- 前缀，指 10^{-3}。

合成代谢 anabolism 由一些较小的分子合成大分子的反应通路。生物合成。

核 nucleus ①一个真核细胞中的主要细胞器，含有组织成染色体的 DNA；②一个原子中，由中子和质子组成的致密核心物质。

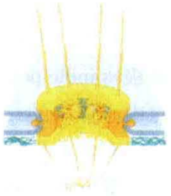
核酶 ribozyme 具有催化性质的一种 RNA 分子。

核被膜 nuclear envelope 真核细胞中包围细胞核的被膜。它由内外两个脂双层组成，并有核孔贯穿。

核磁共振谱 nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy 用于测定蛋白质的三维结构的技术，在溶液中进行，不需要蛋白质晶体。

核苷 nucleoside 由一个嘌呤或嘧啶碱基与一个核糖或一个脱氧核糖连接而组成的化合物（参见图 2-6）。

核苷酸 nucleotide 在核苷的糖上通过酯键连接一个或多个磷酸基所形成的化合物。DNA 和 RNA 是核苷酸的聚合物。



核孔 nuclear pore 通过核被膜的通道，它让选定的分子在细胞核与细胞质之间移动。

核仁 nucleolus 核内的结构，其中转录核糖体 RNA，并装配核糖体亚基。

核受体 nuclear receptor 真核细胞内可以绑定进入细胞的信号分子的受体蛋白，如类固醇激素，核受体和信号分子复合物随后作为一个转录调节器。

核素；同位素 isotope 一种原子的一组形式中的一个。这组形式有相同的化学性质但原子量各不相同。可以是稳定的或放射性的。

核酸 nucleic acid RNA 或 DNA；由核苷酸链组成，其中核苷酸经磷酸二酯键连接在一起。

核糖核酸 ribonucleic acid 见：RNA。

核糖核酸 RNA (ribonucleic acid) 通常为单链多核苷酸链，其核苷酸亚基以共价键的形式相连。它是由 RNA 聚合酶复制 DNA 核苷酸序列合成的。RNA 在细胞中起很多作用，如信使 RNA、小 RNA、核糖体 RNA 和转移 RNA。

核糖开关 riboswitch 某些 RNA 中的短序列，当与一些小分子（如代谢产物）专一性结合时改变其构象，用这种方式调节转录或翻译。

核糖体 ribosome 由核糖体 RNA 和核糖体蛋白组成的颗粒，它与信使 RNA 结合，并催化蛋白质的合成。

核糖体 RNA ribosomal RNA (rRNA) 一些特殊的 RNA 分子，它们构成核糖体结构的一部分并参与蛋白质合成。这些 RNA 分子中的任何一个都称为核糖体 RNA。

核纤层 nuclear lamina 内核膜内表面上的纤维层，由中间丝网构成，这种中间丝由核纤层蛋白组成。

核小体 nucleosome 一条真核染色体的珠状结构单位，由一小段 DNA 缠绕在组蛋白核心上而组成；染色质的基本亚基。

后期 anaphase 有丝分裂的一个阶段，其间两组染色体分开并相背移动，由后期 A（染色体向两个纺锤极移动）和后期 B（两个纺锤极相背运动而互相远离）组成。

后期促进复合物 anaphase-promoting complex (APC) 一种蛋白质复合物，通过催化细胞的泛素化来促进破坏特定蛋白质。这是细胞周期调控系统重要的组成部分。

后随链 lagging strand 在一复制叉处出现的新形成的两条 DNA 链之一。后随链由非连续的片段组成，这些片段稍后再以共价键连接起来。

呼吸作用 respiration 普通术语，用于细胞中的这样一些过程，其中氧分子的摄取与 CO_2 的产生偶联。

互补 DNA complementary DNA (cDNA)作为 mRNA 的一个拷贝的 DNA 分子，因此缺少那种存在于基因组 DNA 中的内含子。用于通过 DNA 测序测定一个蛋白质的氨基酸序列，或通过克隆及随后的表达而大量制造这种蛋白质。

互补的 complementary (关于两个核酸序列的)通过 G 与 C 匹配，A 与 T 或 U 匹配，碱基相互精确地配对，像一条 DNA 双螺旋中的两条链那样。

化学基团 chemical group 共价连接的原子群如一个羟基(—OH)或一个氨基($—NH_2$)，出现于许多不同的分子中，并有一种特殊的化学性质。

化学键 chemical bond 在一种化合物中将两个原子维系在一起的两个原子之间的连接。出现在活细胞中的类型包括：离子键、共价键、极性键和氢键。

化学渗透偶联 chemiosmotic coupling 在此机制中跨膜的一个氢离子浓度梯度(pH 梯度)用于驱动一个需能过程，如 ATP 生产或跨膜转运一个分子。

还原的黄素腺嘌呤二核苷酸 reduced flavin adenine dinucleotide($FADH_2$) 新陈代谢中主要的电子载体，由分解代谢物如琥珀酸氧化期间 FAD 的还原而产生。

还原作用 reduction 电子加到一个原子中，就像氢加到一个分子上或从一个分子移去氧时所发生的那样。与此相反者为氧化作用(图 3-11)。

环腺苷酸 cyclic AMP(cAMP) 由 ATP 产生的对细胞表面受体的激素刺激发生响应的核苷酸。cAMP 通过激活 A 激酶而充当一种信号分子，它被磷酸二酯酶水解成 AMP。

缓冲液 buffer 任何能够释放或摄取质子并因此可在各种不同条件下维持 pH 的弱酸或弱碱的溶液。

活化的载体 activated carrier 含有高能键中某一化学基团的小分子。它起能量供体的作用，或在许多不同的化学反应中提供化学基团，如 ATP、乙酰 CoA 和 NADH。

活化能 activation energy 一个分子必须得到的超额能量，用来超越一个能障，使一个特定的化学反应得以进行。

活化物，激活蛋白 activator 细菌中的一种蛋白质，它与 DNA 的一个特定区域结合，从而允许一个相邻基因进行转录。

活性部位 active site 在发生一个催化反应之前，一个底物分子与一个酶表面的结合部位。

J

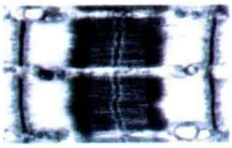
肌醇 1,4,5-三磷酸 inositol 1,4,5-trisphosphate(IP_3) 在肌醇磷脂信号转导通路激活中产生的细胞内小信号分子，导致钙离子从内质网释放。

肌醇 inositol 有 6 个羟基的糖分子，它构成肌醇磷脂的骨架。

肌醇磷脂 inositol phospholipid (phosphoinositide) 质膜中的较少的脂质组分，含有磷酸化的肌醇衍生物，在真核细胞信号转导中有重要作用。

肌动蛋白丝 actin filament 蛋白丝，粗约7 nm，由一连串的球形肌动蛋白分子形成。它是一切真核细胞的细胞骨架的主要成分，在肌细胞中特别丰富。

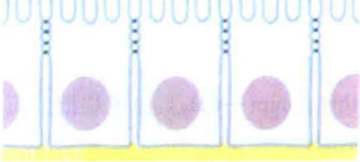
肌节 sarcomere 在一个肌细胞中，一条肌原纤维的重复单位，长约 2.5 μm，由重叠着的粗(肌球蛋白)丝与细(肌动蛋白)丝阵列组成。



肌球蛋白 myosin 系马达蛋白，它利用 ATP 的能量，驱动沿着肌动蛋白丝的运动。肌球蛋白Ⅱ是一个大型蛋白质，它构成骨骼肌的粗丝。较小的肌球蛋白如肌球蛋白Ⅰ分布广泛，负责细胞内许多以肌动蛋白为基础的运动。

肌原纤维 myofibril 一个肌细胞细胞质中的长条形的由肌动蛋白、肌球蛋白和其他蛋白质组成的高度组织化的收缩束，其收缩借助于一种肌丝滑动机制。

基板 basal lamina 胞外基质薄层，它将上皮细胞层及许多类型的细胞如肌细胞或脂肪细胞同结缔组织分开。有时称为基膜。



基部的,底板 basal 位于近基部处。一个细胞的基底部表面,在其顶端表面的对面。

基体 basal body 见:中心粒。

基团 group 见:化学基团

基因 gene 控制一个生物的一个分立的遗传特性的DNA区段,一般对应于单独一个蛋白质或RNA。

基因表达 gene expression 指这样一种过程,基因通过它将其效应施于一个细胞或一个生物,通常借助于引导一种RNA分子的合成,这种RNA分子可翻译成具有特殊活性的蛋白质。

基因敲除小鼠 knockout mouse 经遗传工程处理过的老鼠,它的特定基因被失活。例如,通过在其DNA中引入缺失。

基因型 genotype 一个细胞个体或生物个体载有的特有的一套基因。

基因置换 gene replacement 在一个生物体中一个正常基因被在体外突变了的基因替换,常用来研究基因功能。

基因重复 gene duplication 在基因组中一个基因的偶然重复(或一个含有多个基因的DNA片段)。由此产生的基因的两个副本可因突变积累而分离。基因家族通过一系列的基因重复而产生。

基因组 genome 一个细胞或一个生物承载的全部遗传信息(或载有这种信息的DNA分子)。

基质 matrix 最普通的是指物质形成的一个空间。在细胞生物学,这个词通常是指大的线粒体内室。线粒体基质包含大量的专一性催化氧化反应的酶的混合物,以及线粒体基因组和需要表达线粒体基因的蛋白质(参见图14-4)。

基质 stroma ①结缔组织、腺上皮或其他上皮包埋于其中;②叶绿体大的内部空间,含酶,为光合作用这些酶将 CO_2 参入糖中。

激酶 kinase 见:蛋白激酶。

激素 hormone 一个多细胞生物中由一组细胞产生的一种化学信号,并通过循环系统运输到远处靶组织而实施特殊的效应。

级联 cascade 见:信号级联放大。

极性 polarity 指一个结构,如具有内在的结构不对称的肌动蛋白丝或受精卵,可以使一端与其他部分区分开来。

极性 polar 指一个分子,或一个分子中的共价键,其中一些原子比另一些原子更强烈地吸引着成键电子,因此造成电荷的不均匀(或极化的)分布。

甲基 methyl group(—CH_3),由甲烷衍生而来的疏水性化学基团。

间期 interphase 在一个有丝分裂和下一个之间细胞周期的一个长的阶段,包括 G_1 期、S期和 G_2 期。

间期染色体 interphase chromosome 细胞周期间期呈现去紧缩化(张开的)状态的染色体,此时DNA可供转录。亦见:染色体,有丝分裂染色体。

间隙连接 gap junction 连通的细胞-细胞连接,它使离子和小分子能从一个细胞的胞质进入相邻细胞的胞质中。

剪接体 spliceosome RNA和蛋白质分子的大型集合体,在真核细胞中剪去前体mRNA中的内含子。

减数分裂 meiosis 特殊类型的细胞分裂,通过它产生卵与精子。涉及染色体组从两倍体降为单倍体。两次相继的细胞核分裂,只有其中的一轮复制DNA,产生4个单倍体子细胞(源自希腊语 *meiosis*,减少)。

碱 base 溶液中接受质子的分子。也用于指DNA和RNA中的嘌呤和嘧啶。

碱基对 base pair 在一个RNA分子或一个DNA分子中的通过氢键配对的两个核苷酸,如G配C,A配T或U。

键 bond 见:化学键。

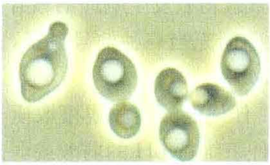
键长 bond length 由一个特定化学键(通常为一个共价健)连接的两个原子间的距离。

键能 bond energy 两个原子间化学键的强度,以破坏它所需要的能量来度量。

交换 crossing-over 通过这个过程,两条同源染色体在相对应的位置发生断裂,并重新结合,产生两条重组的染色体。

胶原蛋白 collagen 富含甘氨酸和脯氨酸的纤维蛋白,它是动物组织中胞外基质的主要成分。以多种型式存在:①型,最普遍,可见于皮肤、腱和骨中;②型,见于软骨中;③型,存在于基板中;等等。

酵母 yeast 几类单细胞真菌的通称,包括那些用于发酵啤酒和做面包以及引起疾病的物种。



结缔组织 connective tissue 大量承载机械负荷并富含细胞外基质的组织,如骨头、肌腱和皮肤。

结构域 domain 一个比较大的结构的各个区域。一个蛋白质域是多肽的一个致密且稳定的折叠着的区域。一个膜域是具有特殊脂质和蛋白质组成的

一个双层区。

结合位点 binding site 一个蛋白质表面上的区域，典型的为一个腔或沟，它与另一个分子（配体）的形状互补，从而可通过形成多个弱（非共价）键而与之结合。

姐妹染色单体 sister chromatid 因DNA复制而形成的一份染色体拷贝（染色单体）仍然与另一拷贝以着丝粒相连，这对染色单体称为姐妹染色单体。

紧密连接 tight junction 将相邻的上皮细胞封结在一起的细胞-细胞连接，阻止胞外介质中的溶解分子从上皮层的一边传人另一边。

进化 evolution 经历许多世代的突变和自然选择而发生的一个生物群体的逐渐改变，由此过程产生生物的新种。

进化树 phylogenetic tree 展示了一组生物群体的进化史的图表，或称为“家庭树”。

净化选择 purifying selection 携带干扰重要功能的突变的个体在进化中被淘汰的选择过程。

静电吸引 electrostatic attraction 发生在相反电荷原子间的吸引力。如离子键和含有极性共价键的分子间的吸引力。

局部介质 local mediator 分泌信号分子短距离作用于邻近细胞上。

巨噬细胞 macrophage 出现于动物组织中的、特化为以吞噬作用摄取特定物质的细胞，由一类白细胞衍生而来。

聚合酶 polymerase 催化将亚基加到一个聚合物上去的一类酶的通称，例如，DNA聚合酶制造DNA；RNA聚合酶制造RNA。

聚合酶链反应 polymerase chain reaction(PCR) 一种技术，它通过DNA聚合作用的多次循环，扩增DNA特定区段，每一次有一短暂的加热处理，用以分离互补链。

聚合物，多聚体 polymer 大的且通常呈线形的分子，由多个相同的或相似的单位（单体）以某种重复的形式连接在一起。

聚核苷酸 polynucleotide 由一系列磷酸二酯键化学键合的一条核苷酸分子链，RNA或DNA。

卷曲螺旋 coiled-coil 特别稳定的杆状蛋白结构，由两条α螺旋相互缠绕而成。

K

卡[①] calorie 热量的一个单位，1卡（简写为“c”）等于加热1 g水，使水温上升1℃所需要的热量。

抗体（免疫球蛋白）antibody B淋巴细胞对外源分子或一种入侵生物做出反应而产生的蛋白质，这种蛋白质与外源分子或细胞紧密结合，从而使后者失活，或决定后者被破坏的命运。

抗原 antigen 被一种抗体分子所识别并与之专一性结合的分子。这样称呼是因为抗原引起免疫反应从而产生抗体。

可变剪接 alternative splicing 同一基因的RNA转录后被剪接成不同的版本，各自可产生不同的蛋白质。

可移动的遗传因子 mobile genetic element 可以从基因组的一个位置到另一个位置移动的短片段的DNA，有时以一个RNA为介质。它们是大多数基因组遗传变异的重要来源。

克隆 cloning 形成一个细胞或一个DNA分子的许多相同的拷贝。

醌 quinine 小的脂溶性的移动电子载体分子，发现于呼吸和光合电子传递链上。

扩散 diffusion 分子和小颗粒经随机的、热驱动的运动，从一处分散至别处。

L

酪氨酸激酶 tyrosine kinase 使特定蛋白质酪氨酸磷酸化的激酶。

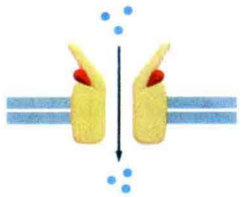
类固醇激素 steroid hormone 与胆固醇相关的亲脂性激素分子，如雌激素和睾酮。

离子 ion 载有正电荷或负电荷的原子或分子。

离子键 ionic bond 把两个离子维系在一起的吸引力，其中一个是阳离子，一个是阴离子。

离子通道 ion channel 系跨膜蛋白，它形成一个穿过脂双层的充满水的通道。经过它，特定的无机离子可沿它们的电化学梯度而下扩散。

离子通道偶联受体 ion-channel-coupled receptor 跨膜受体蛋白或蛋白复合物。形成的门控离子通道可对通道外表面的配体结合做出反应而开启。



连接酶 ligase 把两个DNA片段或RNA片段头尾相接在一起的酶。

两亲（性）的 amphipathic 亲水区与疏水区兼而有之，

① 1卡=4.1868J。

像在磷脂分子和去垢剂分子中那样。

淋巴细胞 lymphocyte 介导对一外源分子(一种抗源)作出专一性免疫反应的白细胞。B 淋巴细胞(B 细胞)产生抗体分子;T 淋巴细胞(T 细胞)识别出现于细胞表面的外源分子并对其做出响应,协助调节 B 淋巴细胞的行为。

磷酸二酯键 phosphodiester bond 共价化学键,其中两个碳原子是以酯连接(通过氧原子)到相同的磷酸基团。磷酸二酯键在 RNA 或 DNA 中连接相邻核苷酸(参见图 2-25)。

磷酸化 见:蛋白磷酸化。

磷酸肌醇 3-激酶(PI 3-激酶)phosphoinpsitide 3-kinase (PI 3-kinase) 响应细胞收到的一个信号,将细胞膜上的磷酸肌醇磷酸化的酶。磷酸化的脂随后成为细胞内信号蛋白的停靠位点。

磷脂 phospholipid 用于组成生物膜的脂分子的类型。一般由两个脂肪酸通过甘油磷酸与各种极性基团中的一个相连接。

磷脂酶 C phospholipase C 与质膜结合的酶,它在肌醇磷脂信号途径中执行关键的一步。

硫酯键 thioester bond 由一个酸(酰)基和一个巯基(—SH)之间的缩合反应形成的高能键,如在乙酰 CoA 中和许多酶-底物复合物中所见的。

绿色荧光蛋白 green fluorescent protein(GFP) 荧光蛋白(来源于水母)被广泛用于检测在活细胞中蛋白质运动的标记。

卵磷脂 phosphatidycholine 常见的在生物膜中大量存在的磷脂(见图 11-6)。

螺旋 helix 一种细长的结构,它以规则的螺旋形式沿中轴盘绕。

M

马达蛋白 motor protein 像肌球蛋白或驱动蛋白那样的蛋白质,它们利用来自 ATP 水解的能量,沿着一条蛋白质丝推进它自身。

酶 enzyme 催化一个特定化学反应的一种蛋白质。

酶偶联受体 enzyme-coupled receptor 跨膜受体蛋白,可对配体与受体的细胞外部分结合做出响应,激活活性(可以是单独的酶或受体的一部分)。

密码子 codon 一种在 DNA 和信使 RNA 分子中的三核苷酸序列,代表了将专一的氨基酸加入到增长中的多肽链中去的指令。

嘧啶 pyrimidine DNA 或 RNA 中两类含氮环状化合物之一,如胞嘧啶、胸腺嘧啶和尿嘧啶。

模板 template 一个分子结构,它被用作为一个模子,产生另外的分子。因此 DNA 中的一个特定序列可作为一个模板去指导合成含互补序列的一条新的 DNA 链。

模式生物 model organism 为了深入研究而作为一大群物种的代表被选择的生物体。例如,小鼠(代表哺乳动物)、酿酒酵母(代表单细胞真核生物)和大肠杆菌(代表细菌)。

膜 membrane 脂分子薄层,其上结合有蛋白质。所有的细胞都由膜包围着,并且许多真核细胞的细胞器由膜形成边界。

膜蛋白 membrane protein 与脂双层结合着的蛋白质。膜内在蛋白质被埋置在脂双层中,且一般在其中形成螺旋;膜周边蛋白质结合于脂双层的表面。

膜电位 membrane potential 膜两边的电位差。由一边的阳离子和另一边的阴离子的微小超额量而引起。相对于周围液体来测量,一个动物细胞的质膜其膜电位通常是 −60 mV(内侧是负的)。

膜封闭的细胞器 membrane-enclosed organelle 由脂质双层膜包围的真核细胞中的任何细胞器,例如,内质网、高尔基体和溶酶体。

膜泡运输 vesicular transport 真核细胞中细胞器之间通过膜封闭囊泡运输物质。

膜片钳记录 patch-clamp recording 一种技术,其中玻璃微电极顶端被一片细胞膜封密,从而它可以记录通过膜中单个离子通道的电流。

膜域 membrane domain 具有特殊脂质和蛋白质组成的一个双层区。

膜转运蛋白 membrane transport protein 埋置于膜中的蛋白质,它能让离子或小分子从膜的一边流至另一边。

摩尔 mole 分子量为 M 的 M g 的一种物质。1 mol 的任何物质都由 6.02×10^{23} 个分子组成。

末期 telophase 有丝分裂的最后阶段,此时两组分开的染色体解聚并由核被膜封装起来。

N

纳米 nanometer(nm) 长度单位,通常用于量度分子和细胞器。$1\ nm=10^{-3}\ \mu m=10^{-9}\ m$。

钠泵 sodium pump 见:Na^+-K^+ 泵。

内含子 intron 一个真核基因的区段,这个区段不编

码蛋白质，但被转录进入一个 RNA 分子，然后经 RNA 剪接而切离，以产生 mRNA（这样称呼是因为它间插于那些为蛋白质编码的 RNA 片段之间）。

内体 endosome 真核细胞中的膜封闭区间，通过内吞的方式进入细胞的物质靠它进入溶酶体。

内质网 endoplasmic reticulum（ER） 在真核细胞的细胞质中的迷宫样膜被区室，在那里分泌脂质和制造那些与膜结合的蛋白质。

能斯特方程 Nernst equation 定量的公式，它把一种离子在一个渗透膜两边的平衡浓度比与跨膜电位差联系起来。

逆转录病毒 retrovirus 含 RNA 的病毒，它进入宿主细胞繁殖，通过反向转录合成其自身 RNA 基因组的一个 DNA 拷贝，并将此 DNA 整合到宿主细胞的基因组中。然后，这个整合的病毒 DNA 指导合成许多新的病毒 RNA 分子，用以制造新的病毒颗粒。

逆转录酶 reverse transcriptase 存在于逆转录病毒中的酶，它从一个单链 RNA 模板分子制造一个双链 DNA 拷贝。

黏连蛋白 cohesion 在细胞周期中 DNA 复制后将姐妹染色体束在一起的环形蛋白质复合体。

黏着连接 adherens junction 细胞连接，这种连接膜（junctional membrane）的胞质面与肌动蛋白丝结合。

鸟苷 5′-二磷酸 GDP（guanosine 5′-diphosphate） GTP 末端的磷酸水解产生的核苷酸，该反应同时产生无机磷酸盐。当自由溶解在液体中，GDP 迅速再磷酸化为 GTP，通常在 ATP＋GDP ⟶ ADP＋GTP 的反应中将 ATP 的末端磷酸转移给 GDP 而实现。

鸟苷 5′-三磷酸 GTP（guanosine 5′-triphosphate） 用于 RNA 合成和某些能量转移反应中的主要核苷三磷酸。在微管组装、蛋白质合成和细胞通讯中有特殊作用。

柠檬酸循环 citric acid cycle （TCA 或 tricarboxylic acid cycle 三羧酸循环；Krebs cycle）一切需氧生物中的核心代谢途径，从食物分子衍生而来的乙酰基被氧化成 CO_2。在真核细胞中，这些反应位于线粒体基质中。

凝聚蛋白 condensin 一种带有环状结构的蛋白质复合体，帮助染色体凝聚。

凝缩 condensation 见：染色体凝缩。

O

偶联反应 coupled reaction 相互关联着的成对的化学反应，其中一个反应释放的自由能驱动另一个反应。

偶联转运 coupled transport 膜转运过程，其中一个分子的转移依赖于另一分子同时的或相继的转移。

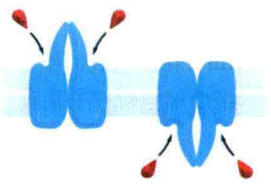
P

胚胎干细胞 embryonic stem cell（ES cell） 一种来源于早期哺乳动物胚胎内细胞团的未分化的细胞类型。胚胎干细胞可以长期地作为一个可增殖的细胞群体（细胞系）保留，但仍保留在处于适当的环境时向体内某个特殊的细胞类型分化的能力。

配对 pairing 从遗传学来看，在减数分裂早期事件中，两条同源染色体排列在一起，形成一个重复的结构（参见碱基对）。

配体 ligand 结合在一个蛋白质的一个特定位置上的分子，如一个激素或一个神经递质。

配体门控通道 ligand-gated channel 一种离子通道蛋白，当它与一个小分子如神经递质结合时，这个离子通道便开放。



配子 gamete 见：生殖细胞

配子 germ cell（gamete） 一个二倍体生物中的细胞类型。它只载有一套染色体，特化，用于有性繁殖。一个精子或一个卵。

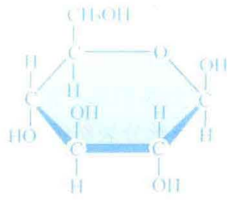
片状伪足 lamellipodium 一个动物细胞质膜的动态片状伸出物，尤指在一表面上迁移的那一种。

嘌呤 purine DNA 或 RNA 中两类含氮环状化合物之一，如腺嘌呤和鸟嘌呤（参见图版 2-6）。

平衡 equilibrium 在化学方面的一种状态，其中正反应进行的速度与逆反应的速度恰好相等，所以不出现净的化学改变。

平衡常数 equilibrium constant（K） 描述一个可逆化学反应平衡状态的数，用反应的正向反应速率常数与逆向反应速率常数之比表示。

葡萄糖 glucose 六碳糖，在活细胞的新陈代谢中起重要作用。在动物细胞中以糖原而在植物细胞中以淀粉那样的聚合物形式储存着。



谱系 pedigree 一个动物个体的子孙或祖先的线性关系。

Q

启动 tRNA initiator tRNA 启动转录的特殊的 tRNA，总是携带甲硫氨酸。

启动子 promoter DNA 中的核苷酸序列，它与 RNA 聚合酶结合而开始转录。

起点识别复合体 origin recognition complex(ORC) 在整个细胞周期，附着在真核细胞染色体复制起点 DNA 上的大型蛋白质复合体。

起始因子 initiation factor 引起核糖体与 mRNA 正确结合的那种蛋白质，这种蛋白质是启动蛋白质合成所需要的。

纤连蛋白 fibronectin 在细胞表面结合整合蛋白的细胞外基质蛋白，帮助细胞附着于基质。

纤毛 cilium(复数 cilia) 一个细胞表面上的毛发状延伸物，其中心为一束微管并能进行重复的拍打运动。大量的纤毛推动液体沿上皮层流动，如在肺中。

纤维蛋白 fibrous protein 呈伸长状的蛋白质，典型的如胶原或中间丝蛋白，它能结合成长丝状的结构。

纤维素 cellulose 结构性多糖由共价连接的葡萄糖单位的长链组成。它在植物细胞中提供抗拉强度。

纤维原细胞 fibroblast 结缔组织中常见的细胞类型，分泌富含胶原蛋白的细胞外基质和其他细胞外基质大分子物质，在受伤的组织中和组织培养中可迁移和增殖。

千焦 kilojoule(kJ) 在米-千克-秒制中能量的一个单位，等于 0.239kcal。2 t 的质量以 1 m/s 速度运动，其动能恰好为 1kJ。

千卡 kilocalorie(kcal) 热量的一个单位，等于 1000 卡。常用于表示食物或分子的能量含量。如键的强度以 kcal/mol 度量。另一个广泛运用的单位是千焦耳。1 千卡等于 4.2 千焦耳。

前导链 leading strand 在 DNA 复制的复制叉处出现的新形成的两条 DNA 链之一。前导链是 5′→3′方向经连续合成而形成的。

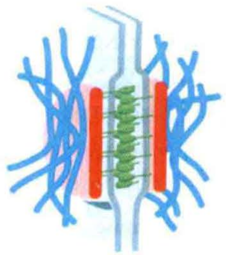
前期 prophase 有丝分裂的第一阶段，在此期间染色体浓缩，但并未与有丝分裂纺锤体连接。也是减数分裂中一个表面上相似的阶段。

前中期 prometaphase 有丝分裂的阶段，在中期之前。

腔 lumen 由上皮层包围着的腔(在一个组织中)或由一膜包围成的腔(在一个细胞中)，如内质网的腔(源自拉丁语 lumen，“光亮”或“开放”)。

羟基 hydroxyl group—OH 由一个氧与一个氢原子相连组成的化学基团，如在乙醇中。

桥粒 desmosome 特化的细胞间连接，通常形成于两个上皮细胞之间，其中间为钙黏着蛋白分子。其特征在于致密的蛋白质盘，两个相连细胞的中间丝插入盘中。



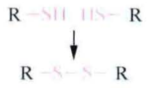
亲水的 Hydrophilic 带电分子、极性分子或一个分子的部分，它能与水形成足量的氢键，容易溶解在水中。(源自希腊语，“爱水的”)。

氢键 hydrogen bond 一个电负性原子如氮或氧与氢原子之间的一种弱化学键，这个氢原子同时与另一个电负性原子结合着。

氢离子 hydrogen ion H^+，水溶液中的一个质子——酸性的基础。这些质子容易与水分子结合形成 H_3O^+，因此严格地说氢离子是一种罕见的物质(见表 2-2)。

球状蛋白 globular protein 具有近似球形的蛋白质。大多数酶是球形的。

巯基 sulfhydryl group(—SH, thiol) 存在于半胱氨酸和别的分子中的含硫与氢的化学基团。两个巯基可以连接产生一个二硫键。



驱动蛋白 kinesin 马达蛋白的一个类型。它利用 ATP 水解的能量而沿微管运动。

去垢剂 detergent 肥皂质化合物，有一个疏水的尾与

一个亲水的头：被生物化学家广泛用于溶解膜蛋白和别的疏水性分子。

醛 aldehyde 含—CH ═O 基团的有反应活性的有机化合物，如甘油醛(参见表 2-1)。

R

染色体 chromosome 由 DNA 和结合蛋白组成的长线状结构，它承载着一个生物的全部遗传信息。在进行着有丝分裂或减数分裂的植物细胞和动物细胞中，尤为明显。

染色体核型 karyotype 依据大小、形状和数量对一套染色体的展示。

染色体浓缩 chromosome condensation 在细胞周期的 M 期之前，染色单体变成更紧凑的结构的过程。

染色质 chromatin DNA、组蛋白与非组蛋白的复合物，出现于真核细胞的细胞核中。这种材料组成染色体。

染色质重构复合物 chromatin-remodeling complex 酶(通常为多亚基的)利用三磷酸腺苷水解的能量改变了真核生物染色体组蛋白与 DNA 的相互作用，导致 DNA 与其他蛋白质相互作用的可能性有所变化，包括那些涉及转录的蛋白。

溶酶体 lysosome 细胞内的膜被细胞器，含消化酶。一个溶酶体内部是高度酸性的，其中的酶在酸性 pH 条件下有活性。

溶质 solute 溶解在液体中的分子。此液体是溶剂。

S

三酰甘油 triacylglycerol 脂肪酸的甘油酯；动物组织中脂肪小滴(其脂肪酸是饱和的)和植物油(其主要脂肪酸是不饱和的)的主要成分。

色氨酸阻遏 tryptophan repressor 一种细菌蛋白质，存在色氨酸时，结合到 DNA 的特定的地区，切断色氨酸合成酶的产生。

色谱分析法 chromatography 一种根据大小、电荷或结合化学基的能力来分离混合物中的分子的技术的总称。通常该技术让混合物穿过一个填有介质的圆柱，该介质设计为阻止(或放行)指定的分子，将混合物中分子分离出来。

熵 entropy 量度一个体系中无序程度的热力学量，熵愈大，无序性愈大。

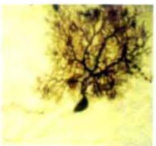
上皮 epithelium 覆盖或包衬一个外表面或腔的细胞层。

神经递质 neurotransmitter 由一个神经细胞在化学突触处分泌的小的信号分子，与突触后的细胞进行通讯。包括乙酰胆碱、谷氨酸、γ-氨基丁酸(GABA)和甘氨酸等。

神经末梢 nerve terminal 一条轴突的末端，信号从这里传递给一个或一些靶细胞或其他细胞，一般通过突触。

神经细胞 nerve cell 见：神经元。

神经元(神经细胞)neuron (nerve cell) 有长突起(轴突与树突)的，特化为接收、传导和发送神经系统中信号的细胞。



渗透 osmosis 水分子通过半透膜的运动，由膜两边溶质的浓度差所驱动。此膜必须可透过水但不能透过溶质分子。

渗透压 osmotic pressure 必须作用于半透膜上低溶质侧的压力，以抗衡由于渗透作用使水流过膜的倾向。

生长因子 growth factor 细胞外多肽信号分子，它刺激细胞生长或繁殖。如表皮生长因子(EGF)和血小板衍生生长因子(PDGF)。

生物合成 biosynthesis 活细胞将简单物质形成复杂分子的过程。

生殖细胞系 germ line 生殖细胞为新一代生物体的产生作贡献。它与体细胞不同，它来源于身体但在下一代中不留下任何子代。

生殖性克隆 reproductive cloning 一个动物遗传上完全相同的人工复制品，例如，将体细胞核移植进一个去核的受精卵中。

识别 recognition 见：分子识别。

适应 adaptation 经重复刺激后，一个细胞或生物的敏感性的调节。即使刺激的高自然本底值甚强时也能响应。

受精 fertilization 一个精子细胞与卵子接触并导致它们的融合和进一步发育的过程。

受精卵 zygote 由雄性和雌性配子融合产生的二倍体细胞。一个受精卵。

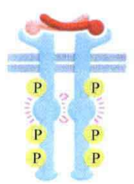
受体 receptor 可以检测一个外部信号并引发专一的细胞反应的细胞(如眼睛的感光细胞)或细胞成分(如受体蛋白)。

受体蛋白 receptor protein 检测某一种刺激的蛋白质，这种刺激通常是某一种信号分子浓度的变化，因此在细胞中激发一个响应。许多受体蛋白质位于质膜中，并与激素、神经递质和外部介质中别的分子相互作用。

受体介导的胞吞作用 receptor-mediated endocytosis 动物细胞的选择性摄取机制，其中一个大分子与质

膜中的一个受体结合，并且包在披有网格蛋白的小泡中进入细胞。

受体酪氨酸激酶 receptor tyrosine kinase（RTK） 具有酪氨酸激酶活性的酶偶联受体，其胞内部分因受体的胞外部分与配体结合而被激活。



受体丝氨酸/苏氨酸激酶 receptor serine/threonine kinase 带有胞外信号结合结构域和一个磷酸化信号蛋白的丝氨酸或苏氨酸的胞内激酶结构域的酶耦合受体。

疏水的 hydrophobic 非极性分子或一个分子的非极性部分，它不能与水分子形成有利的键合相互作用，因而不溶于水。（源自希腊语，“憎水的”。）

双键 double bond 两个原子间化学键的一种类型，由共享 4 个电子而形成。

双螺旋 double helix DNA 分子的典型构象，其中两条链经链间的碱基配对而互相缠绕着。

双脱氧 DNA 测序 dideoxy DNA sequencing 标准的 DNA 测序方法。它采用的 DNA 聚合酶和链终止核苷酸。

双向 bi-orientation 在纺锤体上姐妹染色单体的对称排列，即一个染色单体与纺锤体的一极结合，而另一个染色单体与相对一极结合。

水合氢离子 hydronium ion（H_3O^+），由一个质子加至一个水分子而形成的离子。

水解 hydrolysis（hydrolytic，水解的） 伴随水的加入，裂解一个共价键。—H 被加至裂解的一个产物上，—OH 加至另一个上。

水平基因转移 horizontal gene transfer 通过这个过程，DNA 从一个机体转移到另一个，永久地改变了受体的 DNA 组成。与此相反，“垂直”基因转移是指父母的基因遗传给后代。

顺式 *cis* 如“顺式高尔基体网络”，是最靠近内质网的那部分高尔基体。

丝氨酸/苏氨酸激酶 serine/threonine kinase 对特定蛋白中的丝氨酸或苏氨酸磷酸化的酶。

丝足 filopodium（复数 filopodia） 一个动物细胞表面上的含肌动蛋白的细长延伸物。有时具有一种探查的功能，如在一个发育着的神经细胞的生长锥中那样。

酸 acid 在水中解离，释放质子（H_3O^+）而造成低 pH 的物质。

羧基 carboxyl group 一个碳原子经双键与一个氧原子连接并与一个羟基连接的化学基团。含羧基的分子为弱酸（羧酸）（参见表 2-1）。

羧基端 carboxyl terminus 见：C 端。

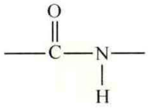
缩合反应 condensation reaction 一种化学反应，两个有机分子相互作用后以共价键结合成一个大分子，并伴随着失去一分子水。

T

调节蛋白密码 regulatory protein code 在某一时候，一组共价修饰蛋白控制蛋白质在细胞内的行为。

调控 DNA 序列 regulatory DNA sequence 转录调节因子结合的 DNA 序列，以确定何时、何地和多少数量的基因被转录为 RNA。

肽键 peptide bond 一个氨基酸羧基与第二个氨基酸氨基之间的化学键——酰胺键的一种特殊形式（见图版 2-5）。



碳固定 carbon fixation 绿色植物将大气中的二氧化碳的碳原子掺入并结合至糖中的过程。系光合作用的第二阶段。

碳水化合物层 carbohydrate layer 细胞外表面的糖残基层，包括蛋白多糖中的多糖部分和蛋白质或脂分子上附着的寡糖。

羰基 carbonyl group 由一个碳原子经一个双键与一个氧原子连接而成的化学基团（参见表 2-1）。

糖 sugar 由碳、氢和氧组成，通式 $(CH_2O)_n$。日常用的“食糖”是一种特殊的甜的二糖，由甜菜或甘蔗产生。

糖胺聚糖（黏多糖）glycosaminoglycan（GAG） 含有氨基糖的高分子质量多糖家族，在动物细胞的保护层上发现。

糖蛋白 glycoprotein 由一个或多个糖链共价连接的蛋白。包括大多数分泌蛋白和暴露在膜外表层的蛋白。

糖酵解 glycolysis 胞质溶胶中普遍存在的代谢途径，其中糖被完全降解而产生 ATP。（源自希腊语，意为“糖的分解”。）

糖类 carbohydrate 糖及相关化合物的通称，其通式为 $(CH_2O)_n$（参见表 2-3）。

糖原 glycogen 仅由葡萄糖单位组成的多糖。在动物细胞中糖原被用于储存能量。肝细胞与肌细胞中糖原大型颗粒特别丰富。

糖脂 glycolipid 膜脂分子，它有一条短的糖链连接于一疏水的尾上。

糖质新生 gluconeogenesis 从小的有机分子如乳酸、丙酮酸或氨基酸合成葡萄糖。

体细胞 somatic cell 植物或动物的任何一种细胞，除了生殖细胞或生殖系前体细胞。来源于希腊语，*soma*，身体。

铁-硫中心 iron-sulfur center 一类蛋白质中的原子集合，由与一些硫原子连接的一些铁原子和半胱氨酸侧链组成。

通道 channel 在脂膜内的一个水孔，其壁是蛋白质，可有选择性地让离子或分子通过。

通用转录因子 general transcription factor 大多数真核基因转录的起始，要求一些蛋白质的组合件围绕 TATA 框，任何一个这种蛋白质称为通用转录因子。

同系物 homolog ①同源染色体；②与另一个大分子有密切进化关系的一个大分子。

同源的 homologous 由于有共同的进化起源而相似。同源基因或蛋白质一般在它们的序列中显示出相似性。

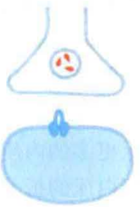
同源基因 homologous gene：见：同源的。

同源染色体 homologous chromosome 一个两倍体细胞中，一条特定染色体的两个拷贝之一，一条来自父体，另一条来自母体。

同源重组 homologous recombination 通常在一对同源染色体上，一对相同的或非常相似的 DNA 序列间进行配对交换。一个类似的过程通常用来修复 DNA 双链断裂。

突变 mutation 一条染色体的核苷酸序列中可遗传的改变。

突触 synapse 一个神经细胞与另一个细胞（神经细胞、肌细胞或腺细胞）之间的特化的连接。大多数突触中由一神经递质携载信号，神经递质作为一个神经冲动的结果而由此神经细胞末端分泌，并扩散至靶细胞。



突触小泡 synaptic vesicle 充满神经递质的心的膜囊，它在一个突触处的一个神经末梢的里边。当一个神经冲动（一个动作电位）到达神经末梢时，突触小泡靠胞吐作用释放它们的内含物。

吞噬细胞 phagocytic cell 一种细胞，如巨噬细胞或中性粒细胞，这种细胞专门通过吞噬作用摄取颗粒或微生物。

吞噬作用 phagocytosis 通过这个过程，微粒物质被一个细胞吞入。突出表现在捕食性原生动物中，如 *Amoeba proteus* 和在多细胞动物的某些特化细胞中，如巨噬细胞。

脱氧核糖核酸 deoxyribonucleic acid 见：DNA。

W

外显子 exon 一个真核基因的片段，它被转录至 RNA 中并编码一个蛋白质的部分氨基酸序列。亦见：内含子。

外显子移动 exon shuffling 形成新基因的进化过程，通过将原本分开的编码不同蛋白质域的外显子连接到一起而形成新的基因。

烷基 alkyl group 一群共价连接的碳氢原子的通称。如甲基（$—CH_3$）或乙基（$—CH_2CH_3$）。有时缩写为 R。

网格蛋白 clathrin 构成一种运输小泡外表面的蛋白，这种有被网格蛋白小泡通过向外分泌途径从高尔基体和向内的内吞途径从细胞膜上萌芽。

微 micro 前缀，指 10^{-6}。

微管 microtubule 长条形刚性的圆柱状胞内结构，直径 20 nm，由微管蛋白组成。微管是细胞骨架的主要成分之一。微管被真核细胞用于调整细胞的形状并控制细胞的运动。

微管蛋白 tubulin 组成微管的蛋白质。

微米 micrometer(μm) 常用于细胞和细胞器的长度单位，相当于 10^{-6} m 或 10^{-4} cm。

未饱和的 unsaturated （关于有机分子的）含有一个或更多碳—碳双键或碳—碳叁键。

未折叠蛋白反应 unfolded protein response 在内质网中因错误折叠蛋白质积累引发的细胞反应。细胞产生更多的内质网，更多的分子机制要用于恢复正常蛋白质的折叠和加工。

位点特异性重组 site-specific recombination 不需要在两个 DNA 序列间有广泛的相似性的重组类型，可以出现在两种不同的 DNA 分子或单个 DNA 分子中。

无性生殖 asexual reproduction 任何不涉及配子产生和结合的生殖方式（如水螅的发芽、细菌的裂殖和真核微生物的有丝分裂）。它产生一个遗传上与亲本完全一样的个体。

X

细胞 cell 组成活体的基本单元，由膜包围的有机分子水溶液组成。所有的细胞通常通过已有细胞的分裂产生。

细胞壁 cell wall 一个细胞沉积于质膜之外的具有坚固的机械强度的纤维层。在大多数植物、细菌、藻类和真菌中是显著的，但大多数动物细胞没有细胞壁。

细胞凋亡 apoptosis 细胞自杀的正常良性过程，在此过程中细胞萎缩、溶解其内含物并激活相邻细胞的吞噬作用。

细胞凋亡蛋白酶 caspase 一种蛋白酶家族，其成员的激活是诱导细胞凋亡的通路的一部分。

细胞分裂 cell division 一个细胞分为两个子细胞。在真核细胞中它必然伴有细胞核的分裂（有丝分裂），紧接着进行细胞质的分裂（胞质分裂）。

细胞骨架 cytoskeleton 一个真核细胞的细胞质中的蛋白质丝体系。它赋予细胞一种呈极性的形态和作定向运动的能力。其最丰富的组分是肌动蛋白丝、微管和中间丝。

细胞记忆 cell memory 细胞及其后裔的能力。可通过不改变任何 DNA 序列来保留以往的影响所产生的痕迹，显示其结果为永久改变的基因表达模式。

细胞连接 cell junction 两个细胞之间的特殊连接区域或一个细胞与胞外基质之间的特殊连接区。

细胞内的信号分子 intracellular signaling molecule 分子（通常是蛋白质），为细胞内转导信号的传递机制的一部分。

细胞内的信号通路 intracellular signaling pathway 蛋白质和小分子第二信使互相作用，从细胞膜传递一个信号到细胞质或细胞核中的终点。

细胞皮层 cell cortex 质膜内面上胞质的特化层。在动物细胞中它是富含肌动蛋白的一层，负责细胞表面的运动。

细胞器 organelle 一个真核细胞的分立结构或亚区室，专门执行一个特定的功能，尤指光学显微镜可见的亚细胞结构。如线粒体和高尔基体。

细胞色素 cytochrome 有色的含血红素的蛋白，它在细胞呼吸作用和光合作用期间转移电子。

细胞外信号分子 extracellular signal molecule 胞外分子，当它与受体结合后能激发胞内的反应。有些信号分子如类固醇激素，可以进入细胞并作用于胞内受体，而其他分子如蛋白质，作用于嵌在细胞膜内并在细胞表面暴露的受体。

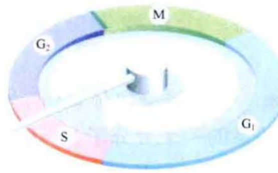
细胞系，细胞株 cell line 源自植物或动物细胞的克隆，能在培养中无限分裂。

细胞信号转导 cell signaling 细胞之间通过胞外化学信号进行的通讯，尤指细胞检测和响应这些信号的分子机制。

细胞移动 cell locomotion 一个细胞从一个位置到另一个位置的主动运动。尤指细胞在一个表面上的迁移。

细胞因子 cytokine 由细胞产生和分泌的小分子蛋白，作用于相邻细胞使之改变行为。通过细胞表面的受体起作用。

细胞质 cytoplasm 一个细胞的内含物，在质膜包围之中。但真核细胞的细胞质在细胞核之外。



细胞周期 cell cycle 细胞的增殖周期：有序的事件序列，通过这些事件，细胞复制它的组分并分裂为二。

细胞周期蛋白 cyclin 其浓度与真核细胞周期步调一致，周期性地上升或降低。它激活特定的蛋白激酶（见：Cdk），从而有助于控制细胞周期从一个阶段进入下一个阶段。

细胞周期控制系统 cell-cycle control system 通过调控真核细胞的细胞周期控制细胞的调控蛋白网络。

细胞周期检查点 checkpoint 真核细胞分裂周期中的

位置，细胞周期的进展可被阻断在此处，一直到条件适合于细胞进入下一个阶段。

细菌 bacteria（单数 bacterium） 一类原核细胞的通称，主要指细菌，亦称“真细菌”，三个生命类群之一；大多数指单细胞生物体，一些引起疾病的细菌（见古细菌）。

细菌紫膜质 bacteriorhodopsin 一种喜盐的盐细菌（盐生盐杆菌 *Halobacterium halobium*）质膜中含有吸收光的紫色蛋白，这种蛋白质对光发生响应，将质子泵出细胞。

酰胺 amide 羰基上连接有一个胺的分子。

酰基 acyl group 由羧酸衍生而来的功能基团（R 代表烷基，如甲基）。

显微镜 microscope 观察非常小的物体的仪器。光学显微镜利用可见光聚焦光束，用于研究细胞和细胞器。电子显微镜利用电子束，可用于检查物体，小到单个分子。

显微照片 micrograph 经显微镜摄制的照片。光学显微镜照片摄自光学显微镜，电子显微镜照片摄自电子显微镜。

限制性核酸酶 restriction nuclease (restriction enzyme) 识别 DNA 中一个特殊短核苷酸序列的核酸酶，只要这个序列出现，这个酶就切割 DNA；不同的限制酶识别不同的核苷酸序列。限制酶被广泛用于重组 DNA 技术中。

线粒体 mitochondrion（复数 mitochondria） 膜被细胞器，大小约如一个细菌，进行氧化磷酸化作用并产生真核细胞中的大部分 ATP。

腺苷-5′-二磷酸 adenosine-5′-diphosphate（ADP） 核苷酸，由 ATP 的末端磷酸水解产生（参见图 3-31）。

腺苷-5′-磷酸 adenosine 5′-monophosphate (AMP) RNA 中的 4 种核苷酸之一。AMP 由在能量方面有利的 ATP 水解产生（参见图 3-40）。

腺苷-5′-三磷酸 adenosine-5′-triphosphate（ATP） 由腺嘌呤、核糖和三个磷酸基组成的核苷三磷酸。细胞中化学能的主要载体。末端的磷酸基，从它们的水解或转移到另一个分子上去的意义上来看，具有高度的反应活性，同时释放大量自由能（参见图 2-23，图 3-31）。

腺苷酸环化酶 adenylyl cyclase 膜结合酶，催化由 ATP 形成 cAMP 的反应。一些胞内信号途径的一个重要组成部分。

小 RNA（miRNA）microRNA（miRNA） 通过与特定的 mRNA 配对来调节其稳定性和翻译来控制基因表达的小非编码 RNA。

小干扰 RNAsmall interfering RNA（siRNA）在 RNA 干扰过程中从双链 RNA 产生的 RNA 短链。它们与其他的 RNA 碱基序列一致，导致目标 RNA 失活或破坏。

小核核糖核蛋白 small nuclear RNA（snRNA） 大约 200 个核苷酸的 RNA 分子，参与 RNA 剪接。

小核核糖核蛋白颗粒 small nuclear ribonucleoprotein particle（snRNP） 由 RNA 和蛋白质组成的剪接体的结构单元。

小泡 vesicle 真核细胞的细胞质中微小的球形膜被细胞器。

小信使 small messenger 见：第二信使。

校正 proofreading DNA 聚合酶沿 DNA 移动时，改正其自身错误的过程。

新陈代谢 metabolism 发生于一个活细胞内或多细胞生物中的化学反应的总和。

信号级联放大 signaling cascade 相互联系的蛋白质反应序列，常包括磷酸化和去磷酸化作用，起一种传递链的作用，在细胞内部发送一个信号。

信号序列 signal sequence 氨基酸序列，它指导一个蛋白质到达细胞内一个规定地点，如细胞核、线粒体或内质网。

信号转导 signal transduction 使一个信号从一种物理的或化学的形式转变为另一种形式。在细胞生物学中，一个细胞以这一过程对一个胞外信号产生一种响应。

信使 RNA messenger RNA（mRNA） 规定一个蛋白质之氨基酸序列的 RNA 分子。由一个比较大的 RNA 分子经 RNA 剪接（在真核生物中）而产生。通过 RNA 聚合酶合成这个比较大的 RNA 分子，它是 DNA 的一个互补拷贝。在一个由核糖体催化的

过程中 mRNA 被翻译成蛋白质。

星状体 aster 由中心体或有丝分裂的纺锤体的一极所发出的星形微管系统。

性染色体 sex chromosome 根据个体性别，可能存在或缺失或以不同拷贝数存在的染色体。在哺乳动物中为 X 和 Y 染色体。

序列 sequence 在一个聚合物链中，亚基的线性次序。例如，在一个蛋白质中的氨基酸序列或 DNA 中的核苷酸序列。一般，一个大分子的序列规定其精确的生物学功能。

循环光合磷酸化 cyclic photophosphorylation 只涉及光合系统Ⅰ的光合作用过程，叶绿体可不通过制造 NADPH 而产生 ATP。

Y

亚基 subunit 形成更大分子的化学基团或分子；一个单体。例如，许多蛋白质复合物是由几个肽链经非共价键维系在一起而组成。

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 NAD^+（nicotine adenine dinucleotide） 这种分子参与一个氧化反应，它从一个供体分子取得一个氢阴离子（H^-），因此产生 NADH，NADH 充当活化的电子载体；NAD^+ 在糖与脂肪的产能降解作用中有重要意义。

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 NADPH（nicotine adenine dinucleotide phosphate） 与 NADH 关系密切的一种载体分子，它是生物合成途径中的一种电子供体。

厌氧的，厌气的 anaerobic （关于细胞、生物或代谢作用的）在没有空气，更精确一点说，在没有分子氧的条件下进行活动的。

阳离子 cation 带正电荷的离子，如 Na^+ 或 $CH_3NH_3^+$。

氧化还原电位 redox potential 一个给定体系提供电子（作为还原剂）或接收电子（作为氧化剂）的趋势的一种量度。

氧化还原对 redox pair 一对分子，在一个氧化反应中其中一个为电子供体，一个为电子受体。如 NADH（电子供体）和 NAD^+（电子受体）。

氧化还原反应 redox reaction 指一种反应，其中电子从一个化合物被转移至另一个化合物上。

氧化磷酸化作用 oxidative phosphorylation 细菌和线粒体中的过程，其中通过电子从食物分子转移至分子氧而驱动形成 ATP，牵涉中间产生的跨膜的一个 pH 梯度，它通过化学渗透偶联驱动 ATP 合成。

氧化作用 oxidation 一个原子的电子密度减小，如因氧加到一个分子上或因移去氢而出现的那样。与此相反为还原作用（参见图 3-11）。

野生型 wild type 一个物种的正常的非突变形式；它是在自然条件下繁殖的结果。

叶绿素 chlorophyll 吸收光的色素，在光合作用中起核心作用。

叶绿体 chloroplast 绿藻与植物中含叶绿素的特化细胞器，光合作用在其中进行。

一氧化氮 nitric oxide（NO） 高度扩散性的小分子，广泛用于细胞间通讯；它能扩散通过细胞膜而不需要膜转运蛋白的帮助。

依赖 cAMP 的激酶 cyclic-AMP-dependent protein kinase（dependent kinase A，PKA） 通过在细胞内的环磷酸腺苷浓度的升高使目标蛋白磷酸化的酶。

依赖细胞周期蛋白的激酶 cyclin dependent kinase（Cdk） 这种蛋白激酶为了发挥作用，它必须与一个细胞周期蛋白配位。不同的 Cdk 细胞周期蛋白复合物通过特定靶蛋白的磷酸化，启动细胞分裂周期的不同阶段。

遗传 heredity 从一代传到另一代的遗传因子，决定个体特征，如父母和子女之间外貌上的相似性。

遗传不稳定性 genetic instability 在癌细胞中经常看到的突变率增加是由于基因突变干扰了精确的基因组复制和维护。

遗传工程 genetic engineering 见：重组 DNA 技术。

遗传密码 genetic code 指一组规则，它规定 DNA 或 RNA 中核苷酸三联体与蛋白质中氨基酸之间的一致性。

遗传筛选 genetic screen 收集特定的表型突变的研究。

遗传图谱 genetic map 染色体中基因的图示法，按照它们互相重组的程度间隔开。

遗传学 genetics 对一个生物体基因基于遗传和变异的研究。

乙酰辅酶 A acetyl coenzyme A（acetyl CoA） 细胞内载有乙酰基的水溶性小分子。其中的一个乙酰基经一个易于水解的硫酯键与辅酶 A 连接。

乙酰基 acetyl group 由乙酸衍生而来的化学基团。

异构体 isomer（stereoisomer） 一组物质中的一员，这组物质含有一些相同原子和有相同分子式（如 $C_6H_{12}O_2$），但这些原子的空间排列不同。光学异构体的差异仅在于互为镜像。

异染色质 heterochromatin 染色体的一个区域，在间期保持异常浓缩，无转录活性。

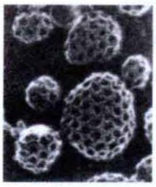
阴离子 anion 带负电的离子，如 Cl^- 或 CH_3COO^-。

引物 primer DNA 复制期间，由于 DNA 聚合酶催化的 DNA 合成反应开始时制造的短片段 RNA，这些

RNA 引物随后被移去并被 DNA 填补。

应力门控通道 stress-gated channel 可由于机械力打开并可选择性地允许特殊离子进入细胞的膜蛋白。

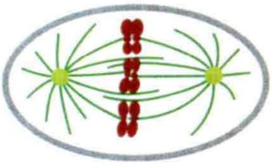
有被小泡 coated vesicle 小的膜被细胞器，在胞质面有笼状的蛋白质（外被）。它是由质膜掐出形成的蛋白质覆盖的。



有机化学 organic chemistry 关于由碳组成的化合物的化学分支。基本上包括组成活细胞的除水以外的全部分子。

有丝分裂 mitosis 真核细胞的细胞核分裂，涉及 DNA 浓缩成可见的染色体（源自希腊语 *mitos*，一条丝，指浓缩成的染色体的丝状外形）。

有丝分裂纺锤体 mitotic spindle 在有丝分裂期间，一真核细胞两极之间形成的微管及结合蛋白系统。用于移动重复染色体从而将它们分开。



有丝分裂染色体 mitotic chromosome 细胞周期有丝分裂时期所呈现的浓缩状态的染色体。每一条有丝分裂染色体与间期染色体不同，在光学显微镜中可以看到，它呈现为浓集的丝状或香肠样物体。亦见：染色体，间期染色体。

有性生殖 sexual reproduction 繁殖的类型之一，两个个体的基因混合在一个新的机体中。通过有性生殖产生的个体不同于他们的父母任何一方。

诱导性多能干细胞 induced pluripotent stem cell（iPS cell） 通过人工引入特定的基因将体细胞重编程为类似胚胎干细胞的状态。

元素 element 不能再分解成其他化学形式的物质。由单一形式的原子组成。

原癌基因 proto-oncogene 见：癌基因。

原核生物 procaryote 以没有一个明显的核为特征的活细胞，如细菌。

原生动物 protozoan 自由生活的不营光合作用的能运动的单细胞真核生物。大多数原生动物，如草履虫（*Paramecium*）或阿米巴（*Amoebe*）作为捕食者或寄生物，靠以别的生物为食而生活。

原位杂交 *in situ* hybridization 在此技术中，一条单链 RNA 或 DNA 探针被用于对一个细胞或组织中的一个基因或一个 mRNA 分子进行定位。

原子 atom 保有独特化学性质元素的最小粒子。

原子价（化合物）valence 一个原子得到或失去的电子数（不论是电子共享或电子转移），尽可能达到其外房被充满。例如，Na 的价是一（必须失去一个电子），Cl 的价是一（必须获得一个电子）。原子的化合价等于原子可以形成的单键的个数。

原子质量 atomic weight 一个原子的质量，用道尔顿表示。

运输小泡 transport vesicle 从一个胞内区室携载蛋白质至另一个区室的膜小泡，如从 ER 至高尔基体。

Z

杂合的 heterozygous 描述一个生物体具有特定基因的不同等位基因。

杂交 hybridization 在此实验处理中，使两条互补的核酸链能选择性地互相结合；一种强有力的技术，用于检测特定核苷酸序列。

载体 vector （在分子遗传学中）遗传因子，通常是噬菌体或质粒，它可以结合外源 DNA 的一个片段并将它载入一个受体细胞。广泛应用于基因克隆。

在活的有机体内 *in vivo* 在一个完整的细胞或生物体内（拉丁文“在生活中”）。

在体外 *in vitro* 生化术语，用于描述发生在一个独立的无细胞提取物中的过程。也被细胞生物学家用来指代细胞的培养（体外），而不是在生物体内（体内）。（拉丁语“在玻璃中”）。

暂态 transition state 一个反应过程中暂时形成的化学结构，并具有反应中间物的最高自由能。

增强子 enhancer 与基因调控蛋白结合的 DNA 调控序列，影响一个结构基因的转录速率。结构基因可与此调控序列相距好几千个碱基对。

真核生物 eucaryote 由一个或多个细胞组成的生物，细胞中有一个明显的细胞核与细胞质。包括植物、动物、真菌和原生动物，不包括细菌（原核生物）。

真细菌 eubacteria 通常出现的细菌的术语，区别于古生菌。

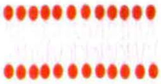
整合蛋白，整合素 integrin 在细胞表面的跨膜蛋白家族，使细胞互相黏附和附着在细胞外基质上，也属于细胞信号。

正反馈环 positive feedback loop 一个反应的最终产物促进其本身的生产的情况。

脂肪 fat 活细胞用于储存代谢能的脂质。主要由三酰甘油组成(参见图 2-4)。

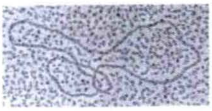
脂肪酸 fatty acid 一条长烃链上连着一个羧酸的化合物,如棕榈酸。新陈代谢期间用作一种主要的能源和合成磷脂的出发点(参见图 2-4)。

脂双层 lipid bilayer 以磷脂分子为主的生物分子薄层,它构成全部细胞膜的结构基础。磷脂分子组装成的两薄层,以它们的疏水尾端指向脂双层里边,而亲水的头指向脂双层的外边而暴露于水中。



脂质 lipid 有机分子,一般含烃链(或多个),它不溶于水但易溶于非极性有机溶剂。磷脂是其中一类,构成生物膜的结构基础。

质粒 plasmid 环状 DNA 小分子,它独立于基因组而复制。在 DNA 克隆中,广泛地用它作载体。



质膜 plasma membrane 包围一个活细胞的膜。

质子 proton 原子核中阳电性的亚原子颗粒。也以阳电性的氢离子作为一个独立的化学形式存在。

中间丝 intermediate filament 纤维蛋白丝(直径约 10 nm),它在动物细胞中成束,似绳索状。常提供抗拉强度。以抗拒由外界施于细胞的张力。

中期 metaphase 有丝分裂的阶段,此时染色体在赤道上牢牢地与有丝分裂纺锤体连接,但尚未向着两极分离。

中心法则 central dogma 遗传信息从 DNA 流向 RNA 再流向蛋白质的法则。

中心粒 centriole 短的圆柱形的微管阵列,通常在(动物细胞中)一个中心体中央呈现为成对配置。类似的结构可见于纤毛和鞭毛的基部,在那里它们被称为基体。

中心体 centrosome(cell center) 动物细胞的位于中央的细胞器,是原初的微管组织中心。有丝分裂时中心体复制,形成纺锤极。在大多数动物细胞中它含有一对中心粒。

中心体循环 centrosome cycle 中心体的复制(在中期)和两个新的中心体分离在有丝分裂的开始,以形成有丝分裂纺锤体的两极。

肿瘤抑制基因 tumor suppressor gene 在正常组织中起作用的一种基因,它限制细胞增殖或侵入性行为。一个两倍体细胞丢失这个基因的两个拷贝或这两个拷贝失活,导致失控并助长这个细胞转变成癌细胞。

重组 DNA recombinant DNA 将不同来源的 DNA 片段组合起来制成新 DNA。

重组 DNA 技术 recombination DNA technology(genetic engineering) 将不同来源的 DNA 片段组合起来制成新 DNA 的技术集合。重组 DNA 广泛应用于基因克隆、生物的遗传修饰和分子生物学中。

重组 recombination 在这个过程中,染色体或 DNA 分子被切断并以新的组合重新连接起来。重组可以在活细胞中进行——例如,通过减数分裂期间的交换——或在试管中利用纯化的 DNA 以及断开和连接 DNA 的酶。

周转次数 turnover number 在酶催化过程中,每秒每个酶分子加工底物分子的数目。虽然不同类型的酶有不同的周转次数,但 1000 个或更多是很常见的,酶的强大的催化力令人印象深刻。

轴突 axon 细长的神经细胞突起,能长距离快速传导神经冲动,从而向别的细胞传递信号。

主动转运 active transport 由 ATP 水解作用或其他形式代谢产生的能量所驱动的跨膜的分子运动。

专一性 specificity 一个分子对另一个分子有选择性的亲和性。这样,即使存在许多无关的分子,仍可让这两者结合或反应。

转化 transformation 经由此过程,细胞从它们的环境中摄取 DNA 分子,然后表达该 DNA 中的基因。

转基因生物 transgenic organism 以一种稳定的掺入形式,使一个植物或一个动物拥有来自另一个细胞的或生物的一或几个基因,并且能将这些基因相继传递至以后各世代中。

转录 transcription 由 RNA 聚合酶将一条 DNA 链拷贝至一条互补 RNA 序列中去。

转录调控 transcription regulator 专一性结合 DNA 的调控序列,并控制一个基因是否开启的蛋白质。

转录后调控 post-transcriptional control 发生在基因转录已经开始后对基因表达的调控。例如,RNA 剪接和其他 RNA 加工活动的调控,小分子 RNA 对翻译的调控。

转录因子 transcription factor 这个名词粗略地应用于真核生物中起始或调节转录所要求的任何蛋白质。包括基因调控蛋白以及一般的转录因子。

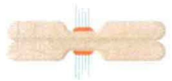
转移 metastasis 癌细胞从早期的肿瘤蔓延到整个身体。

转移 RNA transferRNA(tRNA) 蛋白质合成中的小RNA分子,用作某个特定密码子或密码子组、mRNA与特定的氨基酸之间的联系装置(适配器)。tRNA分子的每一种类型共价连接于某一特定的氨基酸并借碱基配对识别一特定密码子或密码子组。

转运 transporter 膜蛋白运输离子或分子穿过细胞膜。

转座子 transposon 可从一条染色体的一个位置移动到另一个位置上或从同一细胞的一条染色体移动到另一条染色体的DNA片段。大多数生物中遗传变异的一种重要来源。

着丝粒 centromere 一条有丝分裂染色体的缢缩区,它把姐妹染色单体维系在一起。在DNA的这个位置上形成动粒,它是有丝分裂纺锤体微管的结合部位。



自由能 free-energy(*G*) 这种能量可从一个体系被提取用来做有用功,如驱动一个化学反应。

自由能变化 free-energy changeΔG 一个化学反应中反应物分子与产物分子间的自由能之差。一个大的负的ΔG值表明这个反应有一种强烈的自发进行的趋势。

自由组合规律 law of independent assortment 孟德尔推导的遗传第二定律,其中阐明,在配子形成期间不同形状的等位基因可相互独立地分离。

阻抑物 repressor 与DNA的一个特殊区域结合的一个蛋白质,阻止一个相邻基因的转录。

组蛋白 histone 一组碱性蛋白质中的一员,富含精氨酸和赖氨酸,与染色体中的DNA结合。

组蛋白去乙酰化酶 histone deacetylase 将赖氨酸的乙酰基转移到组蛋白的酶。组蛋白的乙酰化作为一个信号吸引其他激活或抑制转录的蛋白。

组合控制 combinatorial control (关于一个基因的表达的)这种控制依赖于是否存在一些调节蛋白的一个特定的组合。

组织 tissue 特化细胞的有组织的集群,它形成一个植物或一个动物的一个独特部分。

(杨 瑾 译)

答　案

第 1 章

答案 1-1　试图定义生命的性质是一件有相当大难度的事，就如下面的评分记录表(表格 A1-1)。吸尘器是高度组织的物体，可从环境中获得物质和能量并将这些能量转化为运动，它也能对外界操作者的指令进行反应。但是，它们并不能繁殖自己，也不能生长或发育——当然老龄的动物也不能。马铃薯也不会对特定的刺激产生反应等。目前对于生命的标准定义令人难以理解，它通常不提到在地球上的生物主要是由有机分子组成，而生命是以碳原子为基础的。就如我们现在所知道的，“生命信息的大分子”——DNA、RNA 和蛋白质——在每个生命物种中都是相同的。

表格 A1-1　关于吸尘器、马铃薯和人类的似是而非的“生命”评分

特性	吸尘器	马铃薯	人类
1. 组织性	是	是	是
2. 内稳定性	是	是	是
3. 繁殖	不	是	是
4. 发育	不	是	是
5. 能量	是	是	是
6. 反应	是	不	是
7. 适应性	不	是	是

答案 1-2　鞋设计中大多数随机的改动会造成缺陷，使得鞋子不大好用：有的鞋有几个后跟，有的没有鞋底或者尺寸不合适，这样显然卖不出去，因而会被市场力量所排斥淘汰。另外一些改动可能是中性的，如色泽与尺寸的细微变化。然而少数修改可能会做出更受欢迎的鞋，例如，在原来的平底上加深刻花，这样在潮湿条件下会更好用一些；改掉高跟而生产出来的鞋穿着舒服得多。这个例子说明倘若试验个数足够大并且施加选择压力，那么随机变化能导致有意义的改变。

答案 1-3　在这个实验中，你创造一个新生命的可能性微乎其微。更可能是空气中的一个孢子落入你的肉汤中发芽，并发育成你观察到的细胞。在 19 世纪中期，Louis Pasteur 发明了一种聪明的仪器能驳斥当时被广泛接受的“生命是自发而来的”观点。如果事前适当地热消毒并密封烧瓶，里面不会生长出任何东西。为了战胜那些认为是由于缺乏氧气所以没有产生生命的观点，以及是他的热消毒杀死了产生生命的本源的观点，他将烧瓶的细颈弯曲成“天鹅脖子样”，防止空气中的孢子进入烧瓶污染肉汤(图 A1-3)。在这样的曲颈瓶中并没有发现有生命的迹象；然而，这些条件能够支持生命，只是这种曲颈瓶阻挡了一些“灰尘”进入培养基。证明方法是只要从瓶颈中泼一点“灰尘”到培养基中即可。

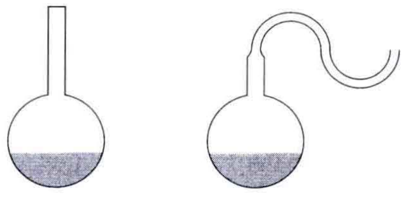


图 A1-3

答案 1-4　6×10^{39} ($=6\times10^{27}$ g/10^{-12} g)个细菌会有与地球同样的质量。根据指数生长方程 $6\times10^{39}=2^{t/20}$，解出这个方程求出 $t=2642$ min(或 44 h)。这仅代表 132 个增代时间！但是在过去的 35 亿年中细菌已经历了 5×10^{14} 个增代时间。在本行星上细菌的总质量显然远不及地球的质量。这说明指数生长只能进行很少几代，即与进化相比仅是很短暂的一点时间。在任何实际情况下，食物供应都会很快减少。

这一简单的计算告诉我们，当食物丰富时快速生长与分裂能力仅是物种生存的一个因素。食物通常是不足的，同一物种中的个体之间必须为有限的资源竞争。自然选择偏爱在竞争中胜出的突变体，或是那些找到方法去利用它们的同类无法利用的食物来源的个体。

答案 1-5　见图 A1-5。

答案 1-6　通过吞入一些物质如食物颗粒，真核细胞可将它们隔离开并有效地利用。与此相反，细菌无法捕食大块食物，但能输出物质以分解食物于环境之中，不过这样的劳动成果必须与相邻的其他同类细胞一起分享。

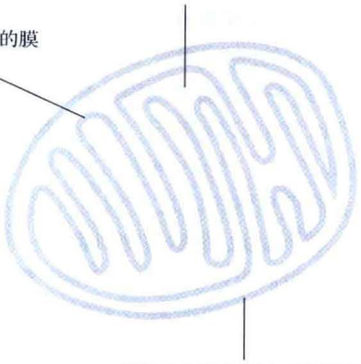


图 A1-5

答案 1-7 光学显微镜术的使用容易得多，并且需要的设备也简单得多。它易于分辨 1 μm 大小的物体，分辨率的下限为 0.2 μm，这是由可见光波长决定的一个理论极限。由于可见光是非破坏性的，且容易透过水，因此光学显微镜术可用于观察活细胞。从另一方面来看，电子显微镜术在样品制备（它要用极薄的切片，以电子致密的重金属染色，并且完全脱水）及仪器性能这两方面都要复杂得多。它不能用于观察活细胞。然而，电子显微镜的分辨率是很高的，10 nm 那么小的物体都很容易分辨。当要观察任何结构细节，如微管、线粒体与细菌时，则需要用电子显微镜术加以分析。不过也可以用特殊染料先给它们染色，再用光学显微镜术确定它们在胞内的位置。

答案 1-8 由于细胞的基本工作是如此相似，因此从研究模式动物体系就已经学到了许多知识。酿酒酵母是一个优良的模式体系，因为酵母细胞比人肿瘤细胞简单得多。我们可以廉价地大量培养酵母细胞。与人的细胞相比，我们更容易在遗传和生物化学上操纵酵母细胞。这样使我们能够利用它破译细胞分裂及生长的规律。癌细胞在它们不应分裂时分裂（因此产生肿瘤），因此从根本上了解细胞如何控制分裂是与癌的问题直接相关的。确实，美国国立癌症研究所、美国癌症学会以及许多别的致力于寻找治疗癌症线索的研究所都大力支持各种模式体系，如酵母的有关细胞分裂的各方面基础研究。

答案 1-9 用“术语汇编”及图版 1-2 检查你的答案。

答案 1-10 A 错误。遗传信息编码在细胞的 DNA 中，它继而赋予蛋白质的特性。

B 正确。细菌没有细胞核。

C 错误。植物由真核细胞组成，它具有作为胞质细胞器的叶绿体。叶绿体被认为在进化上由原核细胞衍生而来。

D 正确。染色体的个数随生物而异，但是在同一个生物的所有细胞中它是恒定的。

E 错误。胞质溶胶是除全体细胞器之外的细胞质部分。

F 正确。核被膜是一双层膜，而线粒体既有一层内膜又有一层外膜包围着。

G 错误。原生动物是单细胞生物，因此没有各种组织。原生动物有复杂的结构，并且有一些高度特化的成分。

H 有一些正确。过氧化物酶体与溶酶体含有一些酶。胞质溶胶中产生的一些物质或被细胞摄入的物质由这些酶分解。当然也可以争辩说，这些物质中有许多被降解并产生食物分子，如果是这样，当然不是“不需要的”。

答案 1-11 一个典型脑细胞重 10^{-9} g（1000 g/10^{12}）。因为 1 g 水体积为 1 mL（$=1\ cm^3=10^{-6}\ m^3$），单个细胞的体积为 $10^{-15}\ m^3$（$=10^{-9}\ g\times10^{-6}\ m^3/g$）。开立方得每个细胞边长为 10^{-5} m 即 10 μm（10^6 μm＝1 m）。书的一页面积为 0.057 m^2（$=21\ cm\times27.5\ cm$），每个细胞有一面积是 $10^{-10}\ m^2$（$=10^{-5}\ m\times10^{-5}\ m$），因此若铺成单层，$5.7\times10^8$（$=0.057\ m^2/10^{-10}\ m^2$）个细胞可填入此页，故 10^{12} 个细胞可占领 1750 页 [$=10^{12}/(5.7\times10^8)$]。

答案 1-12 在这个植物细胞中，A 是细胞核，B 是一个液泡，C 是细胞壁，D 是叶绿体。标尺为 10 μm，相当于细胞核的宽度。

答案 1-13 主要的三种纤维是肌动蛋白丝、中等纤维和微管。肌动蛋白丝参与细胞的快速运动如肌肉收缩；中等纤维赋予细胞机械稳定性；微管在胞内运动中起“铁轨”作用，并在细胞分裂期间负责染色体的分配。所有这些纤维的功能在以后章节中会讨论。

答案 1-14 只需要 20 h 即不到 1 d，突变细胞在培养体系中就变为占主导地位。利用这个问题中提供的方程，我们看到原始的（“野生型”）细菌细胞在突变出现后时间 t（分钟）时的个数为 $10^6\times2^{t/20}$，在时间 t 时突变细胞的个数是 $1\times2^{t/15}$。为了求出何时突变细胞“超过”野生型细胞，我们只要使这两个数相等（如 $10^6\times2^{t/20}=1\times2^{t/15}$），等式两边取以 10 为底的对数解得 t，得 $t=1200$ min（或 20 h）。这时，培养物有 2×10^{24} 个细胞（$10^6\times2^{60}+1\times2^{80}$）。附带说一下，这个细菌细胞重 10^{-12} g，2×10^{24} 个细菌细胞重 2×10^{12} g（$=2\times10^9$ kg，或 200 万 t!）。这只可能是一个想象的

实验。

答案 1-15 细菌的 DNA 不断产生突变。暴露在毒物中的细胞群体有一个或少数几个可能产生突变,使它们产生抵抗药物的作用。抗生素对于细菌是有毒的,因为它们与细菌的某些蛋白质结合。若在蛋白质表面出现微小的变化,则这种结合会变得很弱或完全不结合,抗生素就不起作用了。这些突变细菌会继续快速分裂而它们的堂兄弟们则分裂变慢。对抗生素有抵抗力的细菌不久便会在培养物中成为特有种。

答案 1-16 $10^{13}=2^{(t/1)}$,因此它只需 43 天[$t=13/\log(2)$]。这说明为什么有些癌症会极其迅速地发展。然而许多癌细胞分裂慢得多,或者因为它们内部的不正常,或者因为它们缺少足够的食物供应而死亡,因此通常癌症实际进展得会慢一些。

答案 1-17 活的细胞从非生命物质演化而来,但可生长与复制。犹如其由之起源的物质,活细胞受到物理学、热力学和化学定律的支配。因此,它们不能从无到有创造能量,也不能不消耗能量而建立有序的结构。实际上我们能理解,一切细胞事件如新陈代谢、催化作用、膜的组装及 DNA 复制,就像复杂的化学反应那样,能被实验重复操纵并能在试管中对之加以研究。

除了这种最基本的可还原性外,一个活细胞远非其各部分之和。例如,我们在试管中随机地把蛋白质、核酸及别的化合物混在一起,却造不出一个细胞。细胞的功能依赖它有组织的结构,这是其进化历史的产物。细胞总是来自于已经存在的细胞,一个母细胞通过分裂把化学组分及结构两者都传给子细胞。例如,质膜从不需要从头建起,而总是采用扩展已有质膜的方式;总会有一个核糖体,部分由蛋白质组成,它的功能就是制造更多的蛋白质,其中也包括用于建成更多核糖体的那部分。

答案 1-18 在一个多细胞生物体中,不同细胞分别承担专一的功能,同时相互合作。以这种方式多细胞生物能利用单细胞生物所不能利用的食物来源。例如,一株植物能用它的根从土壤中吸取水分和营养,同时利用叶片从空气中收集光能和 CO_2。通过让其他特化细胞来保护它的生殖细胞,多细胞生物体可以在苛刻的环境中发展出新的生存方式生存,或是击败捕食者。如果食物短缺的话,它甚至有可能让它的生殖细胞吸收储藏在它周围细胞中的资源。更有甚者,食用它的同类(事实上这是个很普遍的现象)。

答案 1-19 细菌细胞的体积和表面积是 5.24×10^{-19} m^3 与 3.14×10^{-12} m^2。动物细胞的体积和表面积为1.77×10^{-15} m^3 与 7.07×10^{-10} m^2。根据这些数值,表面积与体积之比分别是 6×10^6 m^{-1} 与 4×10^5 m^{-1}。换句话说,虽然动物细胞有一个 3375 倍大的体积,但膜表面积只增加至 225 倍。然而若将内膜包括在计算中,则两种细胞的表面积与体积之比几乎相等。因此有了真核细胞的内膜,它们可以长得比较大但仍然保持一个足够大的膜面积——如我们将在后面几章所做的比较详细的讨论那样——这是许多基本功能所要求的。

答案 1-20 关于一个共同祖先有许多方面的证据。对今日活细胞的分析显示出基本组分中一种令人惊异的相似程度,这些组分构成了那些在其他方面非常不同的细胞的内部工作。例如,各种细胞的许多新陈代谢途径是保守的,在一切活细胞中组成核酸与蛋白质的化合物是一样的,尽管很容易会想到选择不同的化合物(如有不同侧链的氨基酸)也一样行得通。类似地,在原核与真核细胞中发现一些重要的蛋白质有很相似的精细结构,这也并非是罕见的。理论上可能有许多不同的方式能构建出功能相同的蛋白质。有证据令人信服地指出,最重要的过程仅被"发明"了一次,然后在进化中加以精细调整去配合特化细胞的特定需要。

然而,不太可能会是第一个细胞存活下来而成为今日生物界的原始的祖先细胞。由于进化不是一个有目的的发展的直接过程,故似乎更有可能曾经存在过大量未获成功的试验细胞,它们在一小段时间内复制过,然后灭绝,因为它们不能适应环境的变化。在与其他细胞的竞争中,它们未能存活下来。因此我们可以猜测原始祖先细胞是一个"幸运的"细胞,在一个相对稳定的环境中它"站住"了,且在此环境中它有机会去复制并进化。

答案 1-21

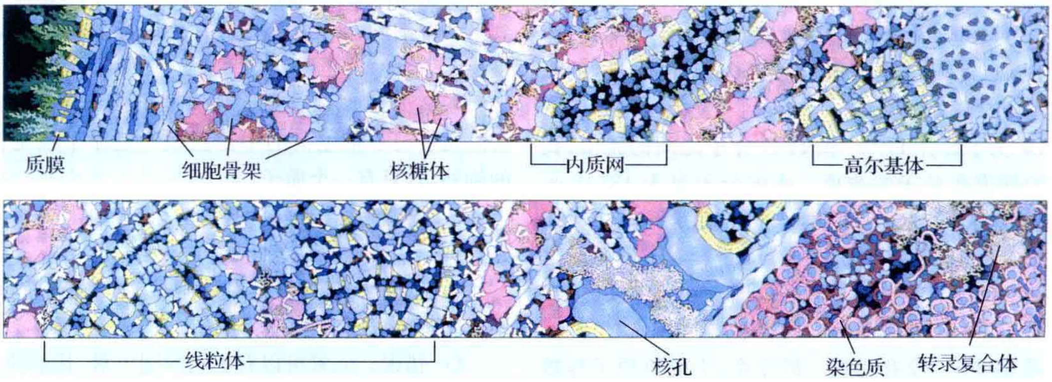


图 A1-21

答案 1-22 一个快速的方法可以先检查是否在细胞表面有摆动的纤毛；它们的存在将告诉你这是个真核细胞。假如你不能看到那些纤毛——很可能看不到这个特征——你将去寻找其他独有的特征。假如你足够幸运，你就有可能看到细胞分裂。在合适的光镜下，你可能能够看到压缩的有丝分裂染色体，这再一次告诉你这是一个真核生物。将细胞固定并用DNA染料进行染色：假如里面包含一个非常容易确认的细胞核，那也能说明这是一个真核生物。假如你不能看到一个非常容易确认的细胞核，那么这个细胞有可能就是一个原核生物。另外，用一个能结合肌动蛋白或微管蛋白的染料（这些蛋白质在真核生物中高度保守，但在原核生物中没有）。将这个细胞包埋并进行切片，通过电子显微镜观察你能在细胞内部看到类似线粒体的细胞器吗？你也可以尝试用革兰氏染料来染色，那个染料对于某些细菌的细胞壁有特异性。但是所有的试验都有可能失败，让你觉得还是不确定。为了得到一个明确的答案，你可以尝试分析这个细胞所含有的DNA和RNA序列，这将使用到复杂的方法（在本书后面会介绍）。高度保守的分子如那些形成核糖体关键组分的蛋白，其序列上有特殊片段，如签名一般地告诉你这个细胞是一个真核生物还是一个细菌或古细菌。假如你不能检测到任何RNA，那你很有可能看到的不是一个细胞而是一小粒的灰尘。

第 2 章

答案 2-1 由于阿伏伽德罗常量非常巨大，故理论上海水里含有至少一分子“希腊”海水的概率是很大的。这杯水含有1 mol即6×10^{23}个水分子，而当今世界上海洋的总体积约为1.5×10^{24} cm^3。混匀以后，每立方厘米的海水中约含有0.4个“希腊”海水分子（$6\times10^{23}/1.5\times10^{24}$），或者每18 g太平洋海水里就含有7.2个“希腊”海水分子。

答案 2-2 A. 原子序数是6，原子量是12（等于6个质子加6个中子）。

B. 电子数是6（等于质子数）。

C. 第1电子层可容纳2个电子，第2电子层可容纳8个电子。因此，碳原子需要额外获得（或失去）4个电子，才能使它的最外电子层达到饱和。它可以通过和其他原子（包括和别的碳原子）共享4个电子而形成4个共价键。此时，碳原子最稳定。

D. 原子量为14的碳原子里有额外的2个中子，即8个中子。由于一个原子的化学性质取决于它的电子，故碳14的化学性质与碳12相同。

答案 2-3 这个表述是正确的。离子键和共价键都是建立在相同原理的基础上：电子可以在两个原子之间均等地共享，形成一个非极性的共价键；电子可以在两个原子之间不均等地共享，形成一个极性的共价键；或者电子从一个原子里彻底地逃逸出去而被另一个原子捕获，形成离子键。在每个可以设想的中间状态下都有化学键。而对于一些临界状态来说，一个键被称为是一个高度极化的共价键还是一个离子键，都是可行的。

答案 2-4 这个陈述是正确的。水分子中的氢-氧键是极性的。因此，氧原子就比氢原子带有更多的负电荷。这样，带有负电荷的氧原子就会被带正电荷的钠离子吸引，而被带有负电荷的氯离子排斥。

答案 2-5 A. 水合氢离子（H_3O^+）来自于水的电离。水分子电离为质子和氢氧根离子。每个质子与一个水分子结合形成一个水合氢离子（$2H_2O \longrightarrow H_3O^+$

$H^+ + OH^- \rightleftharpoons H_3O^+ + OH^-$)。在中性 pH 时，既没有酸能提供更多的 H_3O^+，也没有碱能提供更多的 OH^- 时，H_3O^+ 和 OH^- 的浓度是相等的。我们知道，在中性 pH 时 H^+ 离子的浓度是 10^{-7} mol/L，H^+ 的浓度就是 H_3O^+ 的浓度。

B. 为了计算 H_3O^+ 和 H_2O 分子之间的比值，我们需要知道水分子的浓度。水的分子量为 18(18 g/mol)，1 L 水重 1 kg。因此，水的浓度是 55.6 mol/L [=1000 (g/L)/(18 g/mol)]。H_3O^+ 与 H_2O 分子之比为 1.8×10^{-9} ($=10^{-7}/55.6$)，即在中性 pH 时，10 亿水分子中只有 2 个水分子发生电离。

答案 2-6 没有错误。请注意，小的氢原子连接在氧原子上，而连接在碳原子上的氢原子比较大。这反映出两种键的极性：H—C 键是非极性的，而 H—O 键是极性的。氧原子强烈地将共享电子拉离氢原子，导致氢原子的电子云半径比较小。

答案 2-7 合成一个特定结构的大分子，要求每个位置上只用一个立体异构体。将 L-型氨基酸改为 D-型氨基酸来合成蛋白质，就会导致产生一个不同的蛋白质。因此，如果合成蛋白质时随机选用 D-型和 L-型氨基酸，那么蛋白质的序列就不能确定一个唯一的结构，而可能会有许多个不同的结构(可形成 2^N 个不同的结构，其中 N 是这个蛋白质序列中氨基酸的数目)。

在进化中，为什么 L-型氨基酸会被选作构建蛋白质的唯一的结构单元呢？这仍是一个谜。也许，我们可以设想某个细胞中的某些(甚至全部)蛋白质是由 D-型氨基酸来制造的，只要这个蛋白质全部由该特定的立体异构体来合成即可。

答案 2-8 “极性”这个词可以有两种不同的用法。其中一个含义是指方向的不对称性——如线性聚合物多肽中有一个 N 端和一个 C 端，或者核酸有一个 3′端和一个 5′端。因为一条多肽中只在氨基酸的氨基与羧基之间形成肽键，核酸和多肽总是有两个不同的末端，故它赋予这类长链物质一个确定的极性。

极性的另外一个含义指的是一个分子或一个化学键中的电荷分布。有了这种极性才可以有氢键。由于水分子的水溶性或亲水性依赖于这个意义上的极性，所以有时“极性”这个词也用来表示水溶性。

答案 2-9 缩合反应的主要优点是它们容易被水解反应逆转(且在细胞内容易得到水)。这使细胞能分解它自己的大分子(或当作食物摄入的其他生物体的大分子)，并且回收完整的亚基从而让它们能“再循环”，用于构建新的大分子。

答案 2-10 大分子执行的许多功能依赖于它们快速结合与解离的能力。这使得细胞在运动或分裂时能够重新改造其内部，并把组分从一个细胞器输送到另一个细胞器。这就要求共价键必须足够强大并且稳定。

答案 2-11 A. 正确。所有原子核都是由带正电荷的质子与不带电荷的中子组成。氢原子核是仅有的例外，它只有一个质子。

B. 错误。原子是电中性的。带正电的质子个数总是等于带负电的电子个数。

C. 正确。不过，这仅对细胞核(第 1 章)而言，并不适用于本章所讨论的原子核。

D. 错误。元素可以有不同的同位素，其差异仅在于它们的中子个数。

E. 正确。某些同位素的中子数会使原子处于不稳定状态，它们会在一个放射性衰变的过程中发生分裂。

F. 正确。例如，糖原出现在肝细胞中，它是葡萄糖的聚合物；脂肪滴出现在脂肪细胞中，它由凝聚的三酰甘油组成。

G. 正确。就其本身而论，氢键很弱并且容易被热运动破坏。但是，由于两个大分子间的相互作用涉及大量的氢键，故总的结合力是相当强大的。因为在相互作用的大分子上只有在相互正确定位的基团之间才能形成氢键，所以氢键很专一。

答案 2-12 A. 一个纤维素分子的分子量为 $n\times$ (12[C]+2×1[H]+16[O])。尽管我们不知道 n，但是我们可以计算各个元素对纤维素质量的贡献的百分比。碳原子的贡献是 40%[=12/(12+2+16)×100%]。因此，做成这一页纸的纤维素里含有 2 g 碳原子(5 g 的 40%)。碳的原子量是 12，而 1 mol 中有 6×10^{23} 个原子或分子。因此，这页纸里含有 10^{23} 个碳原子[$=2$ g/12(g/mol)$\times6\times10^{23}$(分子/mol)]。

B. 这页纸的体积是 4×10^{-6} m^3 (=21 cm×27.5 cm×0.07 mm)，这相当于一个边长为 1.6 cm($=4\times10^{-6}$ m^3)的立方体。从 A 中我们知道这页纸有 10^{23} 个碳原子，几何学告诉我们沿着这个立方体的每一边排列着 4.6×10^7 个碳原子。因此，达到这页纸的厚度需要堆砌约 200 000 个碳原子[$=4.6\times10^7\times0.07\times10^{-3}$ m/(1.6×10^{-2} m)]。

C. 若紧紧地叠起，需要 350 000 个直径为 0.2 nm 的碳原子才能堆出 0.07 mm 厚度的一张纸。

D. 两个计算结果有 1.7 倍的差异，这反映：①碳原子不是纤维素中仅有的原子；②纸张不是由紧密排列的原子矩阵(就紧密排列的碳原子而言，金刚石会是这样的情况)，而纤维素分子的原子之间存在很多

空隙。

答案 2-13 A. 一个原子的第一、第二及第三电子层分别可容纳 2、8 和 8 个电子。

B. 氦 能级已经饱和
 氧 获得 2 个电子
 碳 获得或失去 4 个电子
 钠 失去 1 个电子
 氯 获得 1 个电子

C. 氦的能级已经填满，它的化学性质是惰性的。另外，钠原子和氯原子的化学性质极为活泼，容易形成稳定的 Na^+ 和 Cl^-。在食盐中，二者形成离子键。

答案 2-14 一个硫原子比一个氧原子大很多。由于硫原子比较大，它最外层的电子不像氧原子那样被原子核强烈地吸引。因此，氢硫键的极性比氢氧键更弱。由于极性减弱，在 H_2S 分子中的硫原子没有被相邻 H_2S 分子中的氢原子强烈吸引，因而它们不能形成像水那样强的氢键。

答案 2-15 氨基酸的缩合反应和肽键的水解反应见图 A2-15，其中 R_1 和 R_2 代表氨基酸侧链。

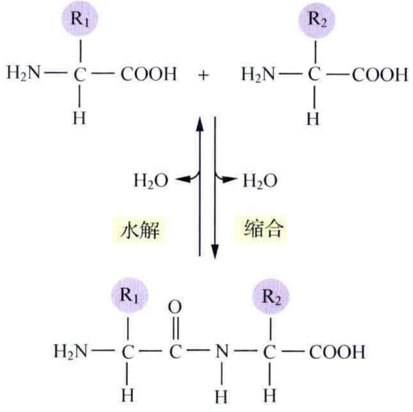


图 A2-15

答案 2-16 A. 错误。一种蛋白质的性质取决于其中的氨基酸序列。蛋白质的多样性是因为 20 种不同的氨基酸可以用几乎无限多种方式结合形成一条线性的序列。

B. 错误。脂类通过非共价键形成脂双分子层。因此，膜不是一个大分子。

C. 正确。核酸的主链由核糖(或是 DNA 中的脱氧核糖)与磷酸基交替相连而成。核糖和脱氧核糖都是糖基团。

D. 正确。自然界存在的 20 种氨基酸中大约一半含有疏水的侧链。在折叠的蛋白质中，许多侧链折叠后朝向蛋白质的内侧，因为它们受到水的排斥。

E. 正确。疏水的烃尾只含有非极性键，因此，它们不能形成氢键而被水排斥。我们将在第 11 章里更为详细地研究它们的基本原理。

F. 错误。RNA 含有列出的 4 种碱基，但 DNA 含有 T，而不是 U。T 和 U 是很相像的，仅有一个甲基的区别。

答案 2-17 A. (a) $400(=20^2)$；(b) $8000(=20^3)$；(a) $160\ 000(=20^4)$；

B. 一个分子质量为 4800 Da 的蛋白质由约 40 个氨基酸组成。因此，它有 $1.1\times10^{52}(=20^{40})$ 种不同的组合方式，其中每种蛋白质的质量是 8×10^{-21} g[$=4800/(6\times10^{23})$]。因此，由这些小蛋白质组成的混合物重达 9×10^{31} g($=8\times10^{-21}$ g$\times1.1\times10^{52}$)，它是地球总重量 6×10^{24} kg 的 15 000 倍。因此，你还真需要一个非常巨大的容器。

C. 鉴于细胞内的大部分蛋白质要比题目中举例的这个蛋白质大，由此可见，活细胞内蛋白质的数目只占到全部可能的氨基酸序列的很小一部分。

答案 2-18 因为一切细胞均由化学物质组成，而且一切化学反应(无论是活细胞中还是在试管中)均遵守相同的规律，故理解并掌握基本的化学原理对学习现代生物学来说是十分重要的。在本书中，我们常常会回顾这些化学原理，细胞中出现的一切复杂的反应都是建立在这些原理的基础之上。

答案 2-19 A. 氢键的相互作用需要特殊的基团：一种是极性共价键中的氢原子，它连接到一个氧原子或氮原子上；另一种情况一般是一个氮原子或氧原子。相比之下，范德华力更弱，而且出现在任意两个靠得足够近的原子之间。氢键和范德华力都是短距离的相互作用力，当两个分子靠得足够近时它们才起作用。因此，我们认为这两种键是分子间相互作用的一种"精细调节"工具。例如，一旦两个分子经扩散而重新聚集到一起时，这种"精细调节"便有助于两个分子彼此正确定位。

B. 在所有的 3 种情况中都会形成范德华力。只有(c)中的情况才会形成氢键。

答案 2-20 以一条多肽链中的氨基酸侧链为例，大分子的亚基之间形成非共价的相互作用并促使多肽链产生特殊的结构。这些相互作用力包括氢键、离子间的相互作用、范德华力以及疏水作用。因为这些相互作用很弱，故它们很容易被破坏。因此，多数大分子可通过加热以增强分子内部热运动而发生去折叠。

答案 2-21 两性分子都有一个亲水和疏水的末端。它们的亲水端能和水形成氢键，但因为它们的疏水端干扰了水的结构而被水排斥。因此，两性分子的

疏水端朝向空气与水交界面的空气一侧。在水溶液的内部和空气与水交界面，两性分子的疏水还会相互聚集在一起而使之与水的接触降到最低程度（图 A2-21）。

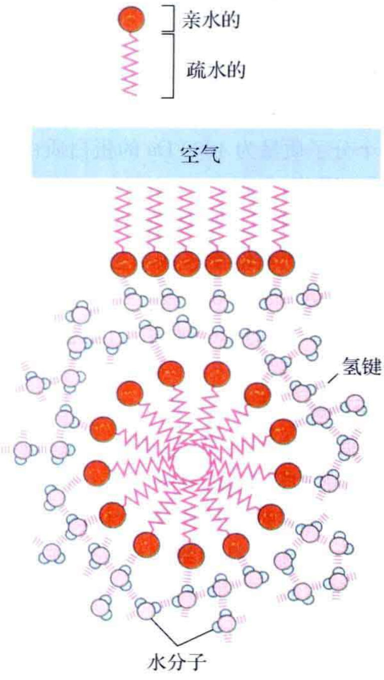


图 A2-21

答案 2-22　A，B. （A）和（B）都是苯丙氨酸正确的分子式。在分子式（B）中，苯丙氨酸表示为水溶液中的电离形式，其中碱性的氨基加上了质子，而酸性的羧基失去了质子。

C. 错误。这个肽键结构少了一个与氮原子结合的氢原子。

D. 错误。这个腺嘌呤碱基的分子式多画了一个双键，造成了一个 5 价的碳原子和一个 4 价的氮原子。

E. 错误。这个核苷三磷酸分子式中应再有两个氧原子，每一个氧原子分别位于两个磷原子之间。

F. 这是正确的乙醇分子式。

G. 错误。水分子不会和碳原子上的氢原子形成氢键。由于缺乏这种氢键的产生，烃链呈疏水性。

H. 错误。Na 和 Cl 之间形成离子键，这里却画了一个共价键。

I. 错误。氧原子比碳原子更容易吸引电子，因此，这两个键的极性画反了。

J. 这个葡萄糖的结构式是正确的。

K. 基本正确。更正确一点的表示方法应为：—NH_2 失去一个氢原子，而—COOH 失去一个—OH。

第 3 章

答案 3-1　这个方程表示一大套单个反应的“底线”，这些单个反应由许多酶分别催化。由于糖分子比 CO_2 及 H_2O 更复杂，因此此反应在细胞内产生一种更加有序的状态。由于热力学第二定律的要求，热是在这个反应途径的多个步骤中产生的，这些反应步骤被概括在这个方程中。

答案 3-2　氧化定义为移去电子。因此，（A）是一个氧化作用，（B）是一个还原作用。在（C）中黑色的碳原子基本上保持不变，但相邻的碳原子失去一个氢原子（一个电子和一个质子）而被氧化。在（D）中的黑色碳原子被氧化，因为它失去一个氢原子。（E）中的那个黑色碳原子被还原了，因为它得到了一个氢原子。

答案 3-3　A. 硬币的两个状态，H 和 T，有相同的概率。因此没有驱动力（即没有能量的差异）会有利于 H 转为 T 或相反。因此，这个反应的 $\Delta G^\circ=0$。然而，若箱内 H 和 T 硬币个数不等，则 H 和 T 之间的浓度差立刻产生一个驱动力，使反应的 ΔG° 不等于 0，直到它达到平衡为止，也就是直至有相等个数的 H 和 T。

B. 摇振的强度对应于温度，因为它导致硬币的“热”运动。这个反应的活化能是消耗于翻转硬币所需要的能量，即令硬币竖立起来，由此硬币可再倒下去，让两个面其中一面向上。颠簸酶（jigglase）通过降低为此所需要的能量而会加速翻转，例如，它可以是悬于箱子上方的一块磁铁以助硬币竖起。颠簸酶并不影响在何处取得平衡（H 和 T 取等值处），但会加快这个趋于平衡的过程，因为在有颠簸酶的情况下会有更多的硬币翻来覆去。

答案 3-4　见图 A3-4，注意 $\Delta G^\circ_{X\to Y}$ 是正的，而 $\Delta G^\circ_{Y\to Z}$ 与 $\Delta G^\circ_{X\to Z}$ 是负的。图解也说明 $\Delta G^\circ_{X\to Z}=\Delta G^\circ_{X\to Y}+\Delta G^\circ_{Y\to Z}$。由图 3-12 提供的信息我们并不知道这个活化能势垒有多高，因此它们被画成了一任意高度（实线）。催化这些反应的酶会降低这个活化能势垒，从而加速反应速率（虚线）。

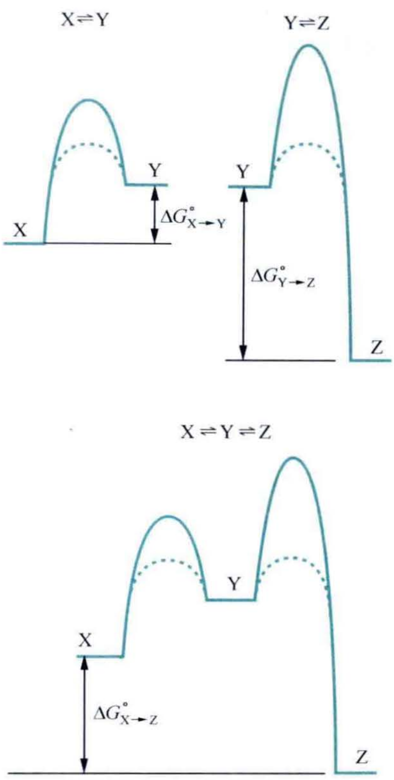


图 A3-4

答案 3-5 反应速率可能会受到下列各因素的限制：①底物的浓度，即每隔一定时间一个 CO_2 分子与酶上的活性中心碰撞一次；②这些碰撞中有多少具备足以导致一个反应的能量；③酶释放反应产物有多快从而可以空出来与下一个底物结合。图 A3-5 表示通过降低活化能势垒，使更多的分子有足够的能量去经历反应。曲线下面从 A 点至无穷的能量或从 B 点至无穷的能量的面积分别表示所有不与酶或与酶反应的分子总数，虽然未按比例画，但这两个面积之比应为 10^7。

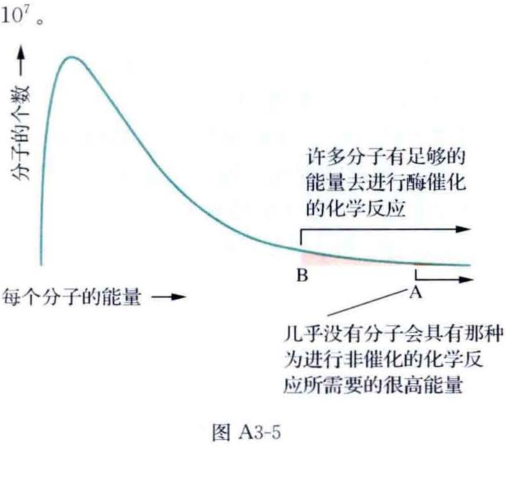


图 A3-5

答案 3-6 所有的反应都是可逆的。如果化合物 AB 能分解产生 A 和 B，那么 A 和 B 也必定能结合生成 AB。两个反应中哪一个占优势取决于平衡常数及 A、B、AB 的浓度（图 3-19 所讨论的）。很可能当这个酶被分离时，它的活性是通过提供大量的 A 和 B 并测定产生 AB 的量来检测的。但是我们也可以假定细胞中有高浓度的 AB，那么在正常情况下酶实际上催化反应 AB ⟶ A＋B（这个问题基于一个实际的例子，一个酶被分离出来并按某一单方向反应而命名该酶，但后来发现此酶在活细胞中催化方向相反的反应）。

答案 3-7 A. 图 3-30(B)中的石块提供能量吊升水桶。ATP 驱动这个反应，因此 ATP 对应于悬崖顶上的石块；破裂的碎片对应于 ADP 和 Pi，它们是 ATP 释放能量并做完功以后的产物。在此反应中，ATP 水解与 X→Y 反应耦合。因此，X 是起始物质（地面上的水桶），它被转变成 Y（处于其最高位上的水桶）。

B. (a)撞击地面的石块可对应于 ATP 的无效水解。如果没有一种酶来利用 ATP 水解的能量驱动一个在能量方面不利的反应，那么储存在磷酐键中的能量会以热的形式被耗散掉。(b)储存在 Y 中的能量可用于驱动另一个反应。例如，倘若 Y 代表一个氨基酸 X 的活化形式，则在蛋白质合成时它可经历一个缩合反应形成一个肽键。

答案 3-8 由 ATP 水解产生的自由能 ΔG 取决于 ΔG° 与底物和产物的浓度。例如，在一定的浓度范围，我们有

$$\Delta G = -12\ \text{kcal/mol} = -7.3\ \text{kcal/mol} + 0.616\ \ln[\text{ADP}][\text{Pi}]/[\text{ATP}]$$

这里 ΔG 比 ΔG° 小，主要是因为在细胞中 ATP 浓度是很高的（在 mmol/L 范围），而 ADP 浓度是低的（10 μmol/L 范围）。这个等式中的浓度因此小于 1，它的对数因而是负值。

答案 3-9 反应 B、C、D 和 E 都要求与另外的在能量方面有利的反应耦合。在每一种情况下，形成与起始物质相比更加有序、更加复杂并且键能更高的结构。相反，反应 A 是一个分解反应，产生处于较低能量状态的化合物，因而可以自发地进行。

答案 3-10 A. 接近正确，但严格地说，是错误的。因为酶提高速率但并不改变一个反应的平衡点。在没有酶的情况下一个反应总是要发生的，虽然其速率常常很小。再者，一些竞争性反应可能会更快地消耗掉底物，这就进一步阻碍了想要的反应。因此实际上，假如没有酶，某些反应可能永远不会进行到可被观察到的程度。

B. 错误。高能电子更容易转移，与供体分子结合

得更为松散。但这并不表示它们会运动得快一些。

C. 正确。一个ATP分子的水解产生AMP,同时产生一个焦磷酸(PPi)分子,它转而被水解成两个磷酸分子。这第二个反应与ATP原始的水解作用所释放的能量几乎相同,因此使能量产量几乎增加1倍。

D. 正确。氧化作用是移去电子,它减小碳原子的直径。

E. 正确。例如,ATP可以提供能量和一个磷酸基。

F. 错误。活细胞中的化学作用是一种特殊的类型,其中的大多数氧化作用是放能事件。然而,在不同的条件如在含氢的环境中,还原作用会是放能事件。

G. 错误。作为代谢反应的一个后果,一切细胞包括冷血与温血动物的细胞,都辐射可观的热量。例如,细菌细胞在堆肥发热时辐射的热量就很明显。

H. 错误。反应 $X \rightleftharpoons Y$ 的平衡常数保持不变。如果Y被第二个反应取走,则有更多的X转变为Y,X与Y之比保持恒定。

答案 3-11 X与Y之间由于三个氢键引起的自由能之差 ΔG^o 为−3 kcal/mol(注意Y的自由能是低于X的,因为将X转变为Y时需要花费能量去裂解键,因此X→Y的 ΔG^o 值是负的)。因此这个反应的平衡常数约为100(表3-1),即在平衡时Y分子个数为X的100倍。另外3个氢键会使 ΔG^o 增加至−6 kcal/mol,并使平衡常数再增加到100倍,达 10^4。因此,比较小的能量差异可对平衡产生一个很重要的效应。

答案 3-12 A. 平衡常数被定义为 $K=[AB]/([A]\times[B])$。这个方括号中代表的是浓度。于是,当A、B和AB都是1 μmol/L(10^{-6} mol/L)浓度时,K 将是 10^6 L/mol[$=10^{-6}/(10^{-6}\times10^{-6})$]。

B. 相似地,假如A、B和AB都是1 nmol/L(10^{-9} mol/L)的话,那么 K 将是 10^9 L/mol。

C. 这个例子给我们展示了在细胞中以低浓度存在的相互作用的蛋白质,需要有较高的亲和性来相互结合,这样在达到平衡时会才有相当数量的分子是结合的。在这个特定的例子中,降低浓度3个数量级(从μmol/L到nmol/L)需要平衡常数也降低3个数量级来维持蛋白质AB复合体的浓度(根据−4.3 kcal/mol自由能,见表3-1)。这需要4或5个额外的氢键。

答案 3-13 陈述正确。一个反应是否能自发进行的判据是 ΔG 而不是 ΔG^o,并需考虑反应组分的浓度。例如,在反应产物已经过剩即超过平衡时的量的条件下,一个有负 ΔG^o 的反应不会自发进行。反之,在底物大量过剩的条件下,一个有正的 ΔG^o 的反应会自发进行。

答案 3-14 A. 最多57个ATP分子(=686/12)可相当于葡萄糖完全氧化为 CO_2 与 H_2O 所释放的能量。

B. ATP生产的总效率可能约为53%,它是按下列两个ATP分子数之比计算的:实际产生的ATP分子数为30。另外,若储存在一个葡萄糖分子中的全部能量作为化学能都被收集在ATP中,那么这样可能获得的ATP分子个数为57,30/57即53%。

C. 1 mol葡萄糖被氧化产生的热量中有322 kcal(1 mol葡萄糖分子发生氧化能得到686 kcal热量,其中47%不是以化学能储存在ATP中)作为热释放掉。这些能量会让你的身体升温约4.3 ℃(=322 kcal/75 kg)。这是一份可观的热量。设想一下,体温升高4 ℃会是怎样一种使人软弱无力的发热,而1 mol(180 g)葡萄糖还不到两杯糖。

D. 若能量产额仅为20%而不是上例中的53%,则所得能量的80%会以热释放并可能要经你的身体耗散掉。产热会比平时多过1.7倍以上,你的身体当然会过热。

E. ATP的化学式是 $C_{10}H_{12}O_{13}N_5P_3$,因此其摩尔质量为503 g/mol。所以你的身体在静息时24 h约水解80 mol[=40 kg/(0.503 kg/mol)]的ATP(这对应于放出的化学能约1000 kcal)。由于1 mol葡萄糖产生30 molATP,故这么多的能量需要480 g葡萄糖氧化产生(=180 g/mol×80 mol/30)。

答案 3-15 这个科学家肯定是个骗子。57 mol的ATP分子可以储存684 kcal(=57×12 kcal)的化学能,说明从葡萄糖生产ATP的效率将大于99.7%。这一不可能效率的结果是最终没有热量的释放,而这种能量释放是热力学定律所要求的。

答案 3-16 A. 由表3-1我们知道一个3.4 kcal/mol自由能的差异相当于一个平衡常数 10^{-3},即 $[A^*][A]=10^{-3}$。因此 A^* 的浓度是A的1/1000。

B. A对 A^* 之比可以不变。降低活化能势垒可加速反应的速率,即在一给定时间内使更多分子进行 $A \rightarrow A^*$ 和 $A^* \rightarrow A$ 的转变,但不会影响平衡点。

答案 3-17 A. 这个突变蘑菇有可能可被安全地食用。ATP水解能提供大约−12 kcal/mol的能量。这么多能量以一个很大的倍数移动一个反应的平衡点:约为 10^8 倍(由表3-1可见−5.7 kcal/mol相当于 10^4 的平衡常数;因此−12 kcal/mol相当于约 10^8。注意耦合反应能量是相加的,而平衡常数是相乘的)。因此,如果ATP水解的能量不能被酶利用,毒性则会降至 $1/10^8$。这个例子说明把一个反应耦合至一个活化载体分子的水解作用可移动平衡点。

B. 吃这种突变生物可能是危险的。降低反应速率不会影响它的平衡点，倘若允许这个反应进行足够长的一段时间，这个蘑菇似乎会带毒。也许反应平衡点不会达到，但还是不建议冒此风险。

答案 3-18 酶 A 对细胞是有益的。它使两个能量载体分子可以互相转化，它们两个都是许多代谢反应所需要的三磷酸基形式。形成的任何 ADP 均可迅速转变成 ATP，因此细胞中保持一个高 ATP/ADP 值。由于酶 A，即核苷酸磷酸激酶，有些 ATP 用于保持同样高的 GTP/GDP 比。

酶 B 对细胞会非常有害。细胞以 NAD^+ 作为分解反应中的一种电子受体并必须保持这种形式载体的高浓度，以便分解葡萄糖制造 ATP。相反，NADPH 用作生物合成反应中的一种电子供体并在细胞中保持高浓度，以便能合成核苷酸、脂肪酸及别的重要分子。由于酶 B 会消耗细胞中的 NAD^+ 和 NADPH 两者的储量，因此分解与合成反应的速率都会降低。

答案 3-19 因为酶是催化剂，因此酶反应从热力学上来说必须是可行的。酶只是降低了反应的活化能障，否则这个能障会降低反应速率。相反，热给底物以更多的动能使一大部分底物能够越过活化能障。然而，许多底物有很多不同的反应途径，热量能够增强所有这些潜在途径，而酶赋予选择性，它只促进某一特定的在进化中被选中对细胞有用的途径。因此热不可能代替酶的功能，鸡汤必定通过有待以后发现的其他机制发挥其有益效应。

答案 3-20 A. 当[S]≤K_M，则简式([S]+ K_M)趋向于 K_M。于是该等式就简化为速率＝V_{max}/K_M[S]，即速率和[S]成比例。

B. 当[S]＝K_M 时候，简式[S]/([S]+ K_M)等于 1/2。因此，反应速率是最大反应速率 V_{max}的一半。

C. 当 [S]≫K_M 时候，简式([S]+ K_M)趋向于[S]，于是[S]/([S]+ K_M)等于 1，这个反应速率就等于最大速率 V_{max}。

答案 3-21 底物浓度是 1 mmol/L，可以将那些数值代入方程中而求得，但是可以比较容易地看出所需的速率(50 μmol/s)实际上是最大速率 Vmax 的一半，此处底物数值典型地等于 K_M。所需的两个曲线见图 A3-21。由于标准方程的重新排列产生了问题 3-23B 中所列的方程，因此速率的倒数(1/速率)对底物浓度的倒数(1/[S])作出的是一条直线。

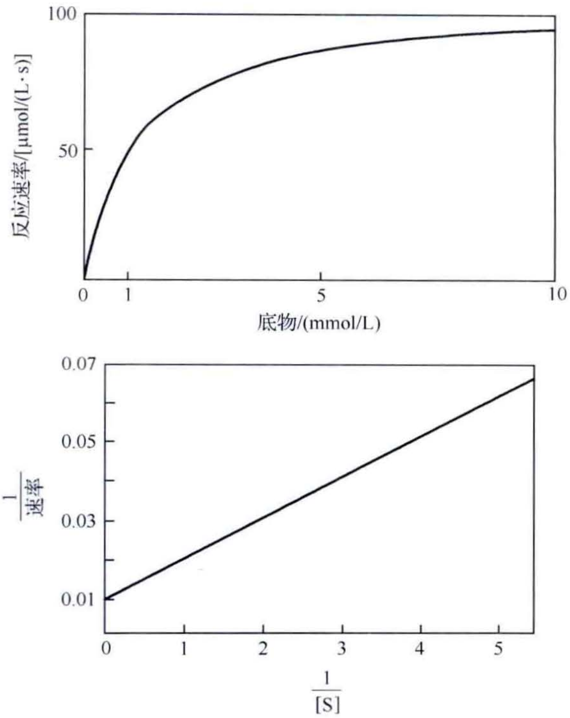


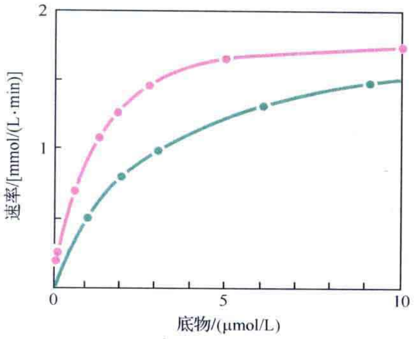
图 A3-21

答案 3-22 如果[S]远小于 K_M，则酶的活性部位大多数未被占据。如果[S]远大于 K_M，则反应速率受酶浓度的限制(因为大多数的催化位点被完全占据)。

答案 3-23 A、B。应用表中的数据画出图 A3-23 所示的红色曲线和红色直线。从曲线的数据可得出，K_M 是 1 μmol/L，V_{max}是 2 μmol/(L・min)。注意由于(A)中曲线接近于但永远不能达到 V_{max}，因此在直线图上的数值比较容易解释。

C. 只产生少量的产物，是很重要的，否则随着底物的耗尽和产物的积累，反应速率就会降低。因此测得的速率往往低于它们应有的数值。

D. 若 K_M 增加，且所需的速率是最大速率的一半，那么底物的浓度就会增加。由于需要比较多的底物才能产生相同的速率，因此酶所催化的反应受磷酸化的抑制。图 3-23 所示的绿色曲线和直线是磷酸化酶预期的数据图。



A和B的数据

[S]/μmol/L	$\frac{1}{[S]}\Big/\left[\frac{1}{\mu mol/L}\right]$	速率/[μmol/(L·min)]	$\frac{1}{速率}\Big/\left[\frac{min}{\mu mol/L}\right]$
0.08	12.50	0.15	6.7
0.12	8.30	0.20	4.8
0.54	1.85	0.70	1.4
1.23	0.81	1.1	0.91
1.82	0.56	1.3	0.77
2.72	0.37	1.5	0.67
4.94	0.20	1.7	0.59
10.00	0.10	1.8	0.56

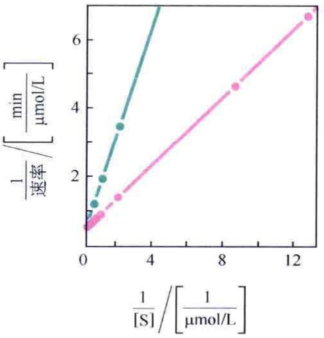


图 A3-23

第 4 章

答案 4-1 尿素是很小的分子，它既是氢键的有效供体(通过它的—NH_2 基团)，又是氢键的有效受体(通过它的—C═O 基团)。因此，它能挤入稳定蛋白的氢键之间而破坏蛋白质的结构。此外，非极性的侧链如果暴露在外面就会破坏水分子的结构，因而它们聚集在一起，处于折叠的蛋白质分子的内部。在高浓度尿素的情况下，水分子的氢键网络被破坏，因此这些疏水作用力大大降低。其结果是在这些力的作用下，蛋白质在尿素中发生去折叠。

答案 4-2 图中所示的蛋白结构域含有两个 α 螺旋，它们都是右旋的。而形成 β 折叠(绿色)的三段肽链是反向平行的。这条多肽链没有结点，或许因为一个节点可能干扰蛋白合成之后的三维构象的折叠。

答案 4-3 这个氨基酸序列由非极性且带电荷的氨基酸和极性的氨基酸交替组成。因此，在 β 折叠中，由这些氨基酸形成的肽链的一侧是极性的，而另一侧则是疏水性的。这种肽链的两侧可能都围绕着相似的肽链，并且共同形成一个带有疏水面和极性面的 β 折叠。在蛋白质中，这样的 β 折叠(由于 β 折叠的两面具有不同的特性，因此被称为“两性分子”，即 amphipathic。它源自希腊语 *amphi*“两种类型的”和 *pathos*“热情”)往往是疏水的一侧朝向蛋白质的内部，极性的一侧位于表面而暴露在外面的水环境中。

答案 4-4 对生物有利的突变在进化过程中被选择下来，因为它们赋予生物体在生长或生存上的优势。这样的例子有：能更好地利用食物资源；增强对诸如热和高盐等环境损伤的抵抗力；或者增强对异性的吸引力来进行有性繁殖。相反，积累毫无用处的蛋白质对生物体是有害的。这些毫无用处的突变蛋白浪费了制造它们所需的代谢能量。如果这样的突变蛋白产生过多，正常的蛋白质合成可能会受阻，这是因为一个细胞的能力是有限的。在更为严重的情况下，突变的蛋白质会干扰细胞的正常工作，例如，一个突变的酶仍然结合活性载体分子，却不能起催化相应的化学反应，突变的酶可能会竞争性地结合数量有限的载体，从而抑制正常的反应过程。因此，自然选择产生了强有力的推动力，来去除无用和有害的蛋白质。

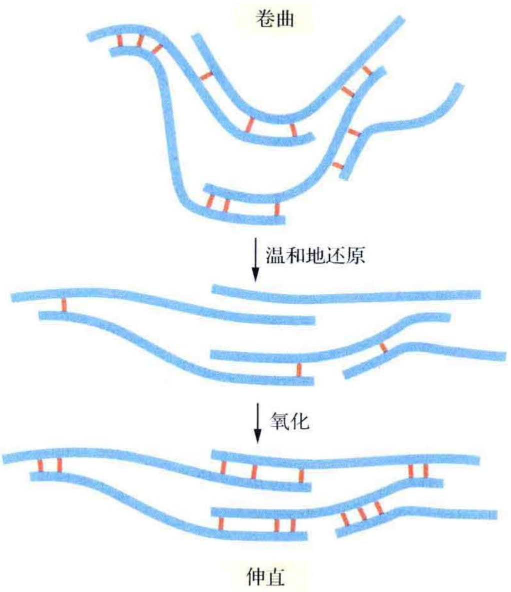


图 A4-5

答案 4-5 打断所有 S—S 键的强还原剂能使所

有的角蛋白丝分离。因而，头发产生解体。事实上，市售的脱毛膏中就使用了强还原剂。然而，温和的还原剂可以用来拉直或卷曲头发，在卷发时还需卷发器(图 A4-5)。

答案 4-6 见图 A4-6。

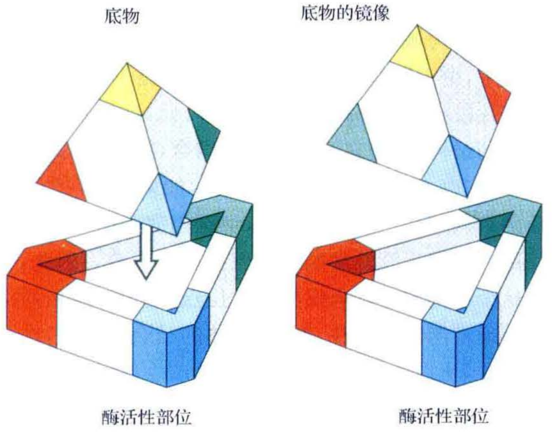


图 A4-6

答案 4-7 A. 来自终产物 Z 的反馈抑制影响反应 B→C 将增加从 B→X→Y→Z 路线的流量，这是因为从 B 转化为 C 的反应被抑制了。因此，Z 越多，就会刺激产生更多的 Z。这有可能导致这条途径“失控”的放大作用。

B. Z 对反应 Y→Z 的反馈抑制控制 Z 的产量。然而，在这种情况下，X 和 Y 仍以正常的速率产生，尽管不再需要有这么多的 X 和 Y。因此，这条途径比图 4-34 中所示的反应途径效率更低。

C. 如果 Z 是反应 B→X 的正调控因子，那么 Z 越多，就会有越多的 B 转化成 X，从而转入产生更多 Z 的通路。因此，这将导致与(A)中所述类似的失控放大作用。

D. 如果 Z 是反应 B→C 的正调控因子，那么 Z 的积累将导致转向产生更多的 C。这是除图中所示之外的另一个可能的途径，它使化合物在两个分支通路之间的分配达到平衡。

答案 4-8 核苷酸的结合和磷酸化都会引起蛋白质的变构作用。这会产生多重影响，例如，改变酶的活性、显著改变蛋白的形状，以及改变蛋白与其他蛋白或小分子的亲和力。两者的机制是多方面的。结合核苷酸的优势在于小的核苷酸能够很快地扩散到蛋白质，例如，与马达蛋白功能相关的形状改变需要快速补充核苷酸。如果一个马达蛋白的不同构象状态是由磷酸化控制的，那么每一步都需要蛋白激酶扩散到位，这会是一个非常缓慢的过程；或是激酶与每个马达蛋白持久地连接。磷酸化的好处在于在蛋白质的表面只需要一个氨基酸残基，而不是一个特定的结合部位。因此，磷酸可以加到同一个蛋白质的不同侧链上(只要存在专一性合适的蛋白激酶)，从而大大提高了某个蛋白质所能执行的调控作用的复杂性。

答案 4-9 在作为蛋白复合物起作用时，三种蛋白质都对专一性起作用(就像保险箱同钥匙的直接结合那样)，彼此帮助正确定位，并提供机械支撑，使它们去完成单个蛋白质无法完成的功能(就好比一把钥匙受两个亚基所控制)。此外，它们的功能通常是及时协调的(例如，一个亚基与 ATP 结合很可能需要另一个 ATP 已被水解成 ADP)。

答案 4-10 A. 正确。只有少数几个氨基酸侧链对酶的活性位点有作用。蛋白的其余部分负责维持多肽链正确的方向，为调控提供额外的结合部位，并使蛋白质在细胞中定位。

B. 正确。某些酶和它们的底物形成共价的中间物(图 13-5)；然而，在所有情况下，在反应之后酶都恢复到最初的结构。

C. 错误。从理论上讲，β 折叠可以含有任何数量的肽链，这是因为组成 β 折叠边缘的两段肽链能通过氢键与其他的肽链相结合(在已知的蛋白质中，β 折叠含有 2～16 条链)。

D. 错误。抗体分子的特异性完全取决于其表面的环，这是正确的；然而，这些环是由折叠着的轻链和重链的结构域共同提供的(图 4-29)。

E. 错误。氨基酸可能的线性排列很少有可能导致产生稳定折叠的蛋白结构域，因此大多数新的蛋白质是通过改变旧的蛋白质来进化的。

F. 正确。在活性位点之外，变构酶通常结合一个或多个作为调节因子而起作用的分子。

G. 错误。非共价键对大分子的三维结构起主要的作用。

H. 错误。亲和层析能分离特定的大分子，这是因为它们与特定的配体发生相互作用，而不是因为它们带有电荷。

I. 错误。尽管较大的细胞器在流体中移动时所产生的流体摩擦力较大，但是细胞器越大，它经受的离心力也就越大，因此沉降也就越快。

答案 4-11 在 α 螺旋和 β 折叠的中心链中，多肽主链上所有的 N—H 和 C═O 基团都参与到氢键中。这就赋予这些二级结构的组分以很大的稳定性，并且使它们可以由许多不同的氨基酸序列所组成。

答案 4-12 不。因为肽键有极性，因此它不可能有相同或者哪怕相似的结构。看一下一条多肽链中

两个连续的氨基酸，靠近 N 端的氨基酸为相连的肽键提供羧基，而另一个氨基酸为肽键提供氨基。对于多肽主链来说，改变这两个氨基酸的序列将使其侧链处于不同的位置，从而改变它们的化学环境。

答案 4-13 由于完成一圈 α 螺旋需要 3.6 个氨基酸残基，因而这 14 个氨基酸序列大约能组成 4 圈 α 螺旋。值得注意的是，由于它的极性氨基酸和疏水性氨基酸是分开排列的，因此所有的极性氨基酸残基位于 α 螺旋的一侧，而所有的疏水性残基位于另一侧。因此，对于这样一个含不同特性的 α 螺旋来说，它的亲水性一侧暴露在蛋白质表面，而它的疏水性一侧朝向蛋白质内部。此外，这样两个 α 螺旋可以相互缠绕，如图 4-13 所示。

答案 4-14 A. “ES”代表酶-底物复合物。

B. 酶与底物在游离和结合的状态之间处于平衡；一旦酶与底物结合，则底物分子既可以从酶-底物复合物上解离下来（因而是双箭头的），也可以转化成产物。然而，当底物转化成产物（同时伴随自由能的释放）时，反应往通常朝单向箭头所示的方向继续向前进行。

C. 酶是催化剂，因而它反应后并不发生改变。“E”出现在反应式的两端。

D. 一个反应的产物常常与底物非常相似因而也能与酶结合。结合到产物上的任何酶分子（例如，“EP 复合物”的一部分）并不起催化作用；因此，过量的产物 P 通过降低游离态的酶的浓度而抑制反应。

E. 化合物 X 是反应的抑制剂，它同样也能在反应中与酶形成复合物 EX。然而，由于 P 必须在它能抑制反应之前形成，故而 P 抑制反应所花的时间要比 X 长，而 X 从反应开始时就出现了。

答案 4-15 极性氨基酸 Ser、Ser-P、Lys、Gln、His 和 Glu 可能出现在蛋白质的表面，而疏水性氨基酸 Leu、Phe、Val、Ile 和 Met 可能出现在蛋白质的内部。两个半胱氨酸残基氧化后形成一个二硫键，从而使它们不能形成氢键，因此更增加了它们的疏水性。二硫键通常出现在蛋白质的内部。不考虑它们侧链的特性，N 端和 C 端的氨基酸都含有一个带电基团（标记多肽链末端的氨基和羧基），因此它们通常出现在蛋白质的表面。

答案 4-16 在分离蛋白时，许多二级结构的组分是不稳定的，但它们需要存在额外的多肽链部分。通常处于结构域内部的疏水区域将暴露在表面。在水溶液中，由于这些疏水区域在能量上是不利的，所以这些片段将非特异地聚集起来。因此，这些片段没有固定的结构，即使它们含有配体结合位点的全部氨基酸，它们也不能结合配体。相反地，如果认为一个蛋白质的结构域是一个折叠单元，那么与完整的结构域相符的多肽链片段常常能够产生正确的折叠。因此，如果这个结构域含有全部的结合位点，则单个蛋白质结构域通常能保持活性，例如，配体的结合。因而，在图 4-16 中，蛋白质多肽链能被切断并产生稳定片段的可能位置就是在两个结构域之间的边界上（也就是位于结构底部右侧的两个 α 螺旋之间的环）。

答案 4-17 酶在高温下失活表明突变引起酶结构的不稳定。例如，两个氨基酸侧链之间可以正常地形成氢键，但由于突变作用，使参与形成氢键的一个氨基酸被不同的氨基酸代替，因此不能形成氢键。在正常情况下，这个氢键帮助维持多肽链的正确折叠，缺少这个氢键，蛋白质就会在原本呈现稳定状态的温度下发生去折叠。当温度升高时，变性的多肽链通常聚集在一起；而当温度再降低时，它们几乎不可能再重新折叠形成活性的蛋白质。

答案 4-18 在例子中，马达蛋白很容易发生向左移动和向右移动，所以它不可能沿着单方向稳定地移动。然而，如果只有其中一个步骤与 ATP 水解相偶联（例如，马达蛋白结合 ATP 后一个“脚”脱离微丝，并等 ATP 水解后再使其附着到微丝上），那么蛋白质将在不断消耗 ATP 的过程中沿着单方向移动。请注意，从原则上讲，哪一步与 ATP 水解相偶联并不重要（图 A4-18）。

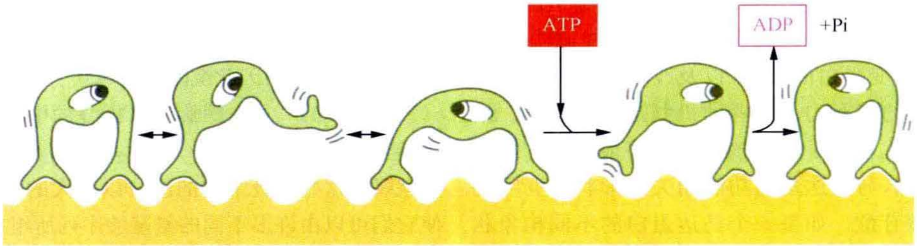


图 A4-18

答案 4-19 小分子通过凝胶层析柱时移动较慢。这是因为比大分子相比，小分子在填充柱内的多孔小珠中要经过更多的空间。然而，重要的是要给小分子以足够的时间，使其能够扩散到小珠子的内部。在很快的流速下，所有的分子都绕小珠快速地移动，以至于大分子和小分子将一起从柱中流出。

答案 4-20 α 螺旋是右旋的，而卷曲螺旋是左旋的。发生这种逆转是由于 α 螺旋的疏水侧链位于间隔交叉的位置。

答案 4-21 位于蛋白结合位点的原子必须精确定位，以适合它们结合的分子。它们的定位需要依次确定离结合位点很远的许多氨基酸和蛋白核心区的侧链的精确位置。因此，即使这个核心区的微小变化也能够改变远处的结合位点的构象，从而中断蛋白质的功能。

第 5 章

答案 5-1 错。一条 DNA 链的极性通常与它糖-磷酸主链的方向相关。

对。G-C 碱基对由三条氢键连接在一起，而 A-T 碱基对只由两条氢键连接。

答案 5-2 图 5-11 中的比例尺相当于百万个核苷酸对。利用此比例来估算包装进 1 号染色体内的 DNA 数量，大约为 2.56×10^8 个核苷酸对。由此推算出 DNA 的总长是 8.7 cm($256\times10^6\times0.34$ nm; 1 nm $=1/10^9$ m)，压缩了 8.7 cm/20 μm=8700 倍。

答案 5-3 组蛋白八聚体大约占细胞核体积的 9%。细胞核的体积是：

$V=4/3\times3.14\times(3\times10^3\ \text{nm})^3$

$V=1.13\times10^3\ \text{nm}^3$

组蛋白八聚体的体积是：

$V=3.14\times(4.5\ \text{nm})^2\times(5\ \text{nm})\times(32\times10^6)$

$V=1.02\times10^{10}\ \text{nm}^3$

组蛋白八聚体与细胞核体积的比值是 0.09；因此，组蛋白八聚体大约占了细胞核体积的 9%。由于 DNA 大约也占了细胞核体积的 9%，因此它们共占了细胞核体积的 18%。

答案 5-4 大多数蛋白质在进化过程中共氨基酸得改变被积累起来。但是，组蛋白的功能肯定与它几乎所有的氨基酸有关，因而组蛋白中任何一个氨基酸的改变对细胞来说都是有害的。组蛋白对于它的功能是极度精练的。

答案 5-5 男性只有一条 X 染色体，因此 X 染色体上的缺陷基因没有正常备份。而女性有两条 X 染色体，每一条遗传各自一个亲本，因此一条 X 染色体上的缺陷基因通常可以由另一条 X 染色体上正常的基因来弥补。引起色盲的基因就是这种情况。然而，在女性发育过程中，一条 X 染色体浓缩成异染色质，其转录被关闭(图 5-30)。这种情况随机发生在每个细胞内两条 X 染色体中的一条，因此女性的一部分细胞表达有缺陷的突变基因，而另一部分细胞则表达正常的基因拷贝。这就导致了在视网膜上平均每两个锥体细胞只有一个是具有功能的色光感受器，因此，在一条 X 染色体上携带突变基因的女性在看彩色图像时分辨率降低。

一个患有色盲的女性必定带有该基因的两份缺陷拷贝，分别来自于父亲或母亲。因此，她父亲的 X 染色体上一定携带这种突变基因，因为这是他所携带的这个基因的唯一拷贝，所以他应是色盲。她的母亲则可能在两条 X 染色体的任意一条或者两条上都携带缺陷基因。因而，她母亲可能是色盲(两条染色体上都携带缺陷基因)或者如上所述色觉分辨率降低。人类中已发现好几种不同类型的遗传性色盲，此问题只适用于一种类型。

答案 5-6 A. 互补链的序列是：5′-TGATTGTGGACAAAAATCC-3′。配对的 DNA 链有相反的极性，传统上，以 5′→3′方向书写单链 DNA 的序列。

B. DNA 由四种核苷酸组成($100\%=13\%\text{A}+x\%\text{T}+y\%\text{G}+z\%\text{C}$)。由于 A 与 T 配对，这两种碱基在 DNA 中有相同的摩尔数比例。因此，本题中细菌 DNA 胸腺嘧啶含量为 13%。G 和 C 则共有 74%[=100%−(13%+13%)]，而这两者形成碱基配对因而是等摩尔数的。所以，$y=z=74/2=37$。

C. N 个碱基长的单链 DNA 分子有 4^N 种可能序列。但是对于双链 DNA 分子而言，计算其可能的数目更为困难。4^N 种单链 DNA 序列中，有多条会与一览表中的另一条可能序列互补，例如，5′-AGTCC-3′和 5′-GGACT-3′形成同一种双链 DNA 分子，因此算作一种双链 DNA 可能性。如果 N 是奇数，每种单链序列将与一览表中的另一种序列互补，所以双链 DNA 序列的数目应该是 0.5×4^N。如果 N 是偶数，那么会比这稍多些。因为有些序列会自互补(如 5′-ACTAGT-3′)，实际数值可以计算得 $0.5\times4^N+0.5\times4^{N/2}$。

D. 为了构成 N 个核苷酸长的一个专一性的序列，4^N 应该大于 3×10^6。因此，$4^N>3\times10^6$，则 $N>\ln(3\times10^6)/\ln(4)=10.7$。所以，在此基因组内，平均只有 11 个核苷酸长的序列即为特异的。对于动物细胞的基因组进行同样的计算，得出最短片段为 16 个核苷酸。这表明较短的序列即可标记基因组内一个特

定的位置，例如，作为某一特定基因的识别标记。

答案 5-7 如果在 DNA 复制时频繁地掺入错误碱基，遗传信息就不能精确地遗传，因而，生命将无法存在。尽管这些碱基能形成氢键而配对，但它们适合形成双螺旋结构。在 A-C 配对中，A 碱基结合糖-磷酸主链的角度会非常不同，而在 A-G 配对中则有两个大嘌呤环相互作用，将使得糖-磷酸主链之间的距离大为增加。所以，在 DNA 链中掺入错误的碱基在能量上是不利的，所以这种错误发生的概率是非常低的。

答案 5-8 A. 碱基 V、W、X 和 Y 可以形成 DNA 样的双螺旋分子，和真正的 DNA 具有几乎相同的性质。V 总是与 X 配对，而 W 则与 Y 配对。所以，这种大分子可能来自利用同样原理复制其基因组的一种生命体。原则上，如 V、W、X 和 Y 等不同的碱基，在进化过程中可能已被选作地球上 DNA 的构成元件（类似地，与组成全部蛋白质进化过程中选择的那组 20 个氨基酸相比，有更多可想象的氨基酸侧链）。

B. V、W、X 或 Y 中没有一个碱基可以替代 A、T、G 或 C。为了保持双螺旋两条糖-磷酸主链之间的距离，嘧啶总是与嘌呤配对（图 5-6）。因此，八种可能的组合是 V-A、V-G、W-A、W-G、X-C、X-T、Y-C 和 Y-T。然而，由于氢键受体基团与氢键供体基团所处的位置，这些组合都不可能形成稳定碱基对。图 A5-8中所示的是 V-A 配对只能形成一个氢键。

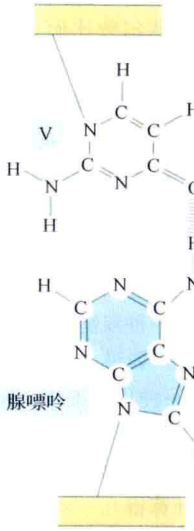


图 A5-8

答案 5-9 DNA 双螺旋由碱基之间的氢键维系在一起的，因此，螺旋结构的稳定性很大程度上取决于所形成氢键的数目。有两个参数决定稳定性：核苷酸配对的数目和每个核苷酸配所贡献的氢键数目。如图 5-6 所示，一个 A-T 碱基配对贡献两个氢键，一个 G-C 碱基配对贡献三个氢键。所以，螺旋 C（共有 34 个氢键）在最低的温度下解链，螺旋 B（共有 65 个氢键）随后解链，螺旋 A（共有 78 个氢键）是最稳定的，这很大程度上由于它的高 GC 含量。事实上，生活在极端温度环境下的生物体，如果某些生长在温泉的细菌，其 DNA 有很高的 GC 含量。

答案 5-10 DNA 会被放大 2.5×10^6（$=5\times10^{-3}/2\times10^9$ m）倍。电缆线将会有 2500 km 长。这大约是从伦敦到伊斯坦布尔，从旧金山到堪萨斯城，从东京到台湾南部，从墨尔本到凯恩斯的距离。相邻的碱基相距大约 0.85 mm（这大约是本书 12 页堆积起来的厚度）。1000 个碱基对的基因大约有 85 cm 长。

答案 5-11 需要两个比特（bit）指定每个核苷酸对（如 00，01，10，和 11 可作为四个不同核苷酸的二进制编码，每个与其相应的对应者配对）。

整个人基因组（3×10^9 核苷酸对）可以储存在 2 张 CD 上（$3\times10^9\times2$ bits/4.8×10^9 bits）。

答案 5-12 正确。

错误。核小体核心蛋白质的直径约为 11 nm。它们包装成 30 nm 直径的纤丝的途径如图 5-25 所示。

答案 5-13 这些术语的定义可以在“术语汇编”中找到。DNA 和专一性的蛋白质装配成染色质。第一个包装层次，组蛋白形成核小体的核心。在核小体上，DNA 环绕这个核心两圈。在两次核分裂之间，即分裂间期，间期染色体的染色质处于比较伸展的状态，散布在核里，而它的某些区域——异染色质仍然致密包装并且没有转录活性。在核分裂期——有丝分裂期——复制后的染色体浓缩成无转录活性的有丝分裂染色体，将来会被分配到两个子细胞中去。

答案 5-14 菌落是源自单独一个细胞的一群细胞，细胞一次次分裂，菌落向外生长。图 Q5-14 下面的菌落中，当 *Ade2* 基因被移到靠近端粒时失活，然而少数细胞其 *Ade2* 基因显然能自动激活，因此变成白色。一旦一个细胞中 *Ade2* 被激活，则这个细胞的所有后代中，*Ade2* 基因都是有活性的，结果就在菌落中产生了一群白色细胞（白色扇形）。这一结果同时也说明基因被移到端粒附近造成的失活能恢复，并且此恢复突变能传递到下一代。*Ade2* 基因表达的这一变化，可能是由于基因周围的染色质结构自发解凝聚所致。

答案 5-15 从电镜照片中，我们可以看到两种不同密度的染色质区域，深染区对应于异染色质，较伸展的染色质染色较浅。核 A 中的染色质大部分是浓缩的、转录不活跃的异染色质。而核 B 中的大多数染色

质是解浓缩的，因而可能是转录活跃的。核 A 来源于网织红细胞，这是红细胞的前体，它主要用于制造一种蛋白质——血红蛋白。核 B 来源于淋巴细胞，它活跃地转录许多不同的基因。

答案 5-16 螺旋 A 是右手螺旋。螺旋 C 是左手螺旋。螺旋 B 有一条链是右手的，另一条链是左手的。有多种方法找出一个螺旋的方向。对于像图 Q5-14 中垂直方向的螺旋来说，如果前面的链是指向右上方的，就是右手螺旋；如果它们指向左上方，就是左手螺旋。一旦你能轻松地鉴定螺旋的方向，你会非常有意思地发现广告中几乎 50%的"DNA"螺旋是左手螺旋，这也同样是书本上一个高得惊人的数字。还要令人惊奇的是，螺旋 B 的版本居然被用在一个重要的国际会议的广告上，而那次会议恰好是一个庆祝发现 DNA 双螺旋 30 周年的会议。

答案 5-17 包装一个核小体核心的比率是 4.5 [(146bp×0.34 nm/bp)/(11 nm) = 4.5]。如果有一个额外的 54 bp 长的连接区 DNA，那么"绳珠"结构 DNA 的包装比率是 2.3[(200 bp×0.34 nm/bp)/(11 nm+54 bp×0.34 nm/bp) =2.3]。这一第一层次的压缩仅代表了发生在有丝分裂时总压缩程度的 0.023% (2.3/10 000)。

答案 5-18 已知的所有改变染色质结构的机制似乎都很容易逆转。因此，作为对特定信号的响应，组蛋白上对赖氨酸、精氨酸和丝氨酸侧链的任何一种共价修饰都是可以被去除的过程中这种可逆性使得发育的途径有很强的可塑性，而这一点正是以 DNA 改变为基础的假说难以实现的。

第 6 章

答案 6-1 A. 复制叉 4 和 5 之间的距离大约为 280 nm，相当于 824 个核苷酸(=280/0.34)。两个复制叉将于约 8 s 内相遇。复制叉 7 和 8 彼此朝相反方向移动，因而不会相遇。

B. 电镜照片所示的 DNA 总长度约为 1.5 μm，对应于 4400 核苷酸。只有该果蝇细胞总 DNA 的 0.002% [$=4400/(1.8\times10^8)\times100\%$]

答案 6-2 尽管这一过程看似浪费，但在引物最初形成时是不可能校对的。在一段单链 DNA 上起始新的引物，首先要将一个核苷酸放到适当的位置，然后连接上第二个、第三个，等等。即使这些最初的核苷酸能与模板链精确配对，它们也以非常低的亲和度结合，因此，假想中的引物酶的校对活动也很难区别正确与错误的碱基，这些酶也就失去了作用。引物酶的主要任务就是"将那些与模板相对结合较好的核苷酸聚合在一起，而不必关心其精确性"。稍后这些序列被 DNA 聚合酶去除并被取代，DNA 聚合酶以新近合成(因此进行过校对)的 DNA 作为引物。

答案 6-3 A. 没有 DNA 聚合酶，复制根本不能进行。RNA 引物将在复制起始位点积累。

B. DNA 连接酶连接后随链上合成的 DNA 片段。没有连接酶，则新复制的 DNA 链将保持片段状态，但核苷酸不会丢失。

C. 没有滑动夹钳，DNA 聚合酶会脱离 DNA 模板。原则上，它能再结合并继续反应，但不断地脱离和再结合会耗费很多时间，从而大大降低 DNA 复制的速度。

D. 没有 RNA 切除酶，则 RNA 片段将保持与新复制的 DNA 片段共价连接。由于连接酶不能将 DNA 连接于 RNA，连接反应不能进行。因此，后随链将由 RNA 和 DNA 片段两者组成。

E. 没有 DNA 解旋酶，则 DNA 聚合酶将不会前进，因为它不能分开其前方模板 DNA 的两条链。不合成或极少合成新的 DNA。

F. 没有引物酶，则 RNA 引物在前导链或后随链上均不能起始。DNA 复制因此也不能起始。

答案 6-4 由脱氨基和脱嘌呤反应导致的 DNA 损伤自发地发生。这类损伤不是复制的结果，因此它发生在两条链上的可能性是相等的。如果 DNA 修复酶只识别新合成的 DNA 链上的这类损伤，那么这些缺陷中的一半将未被校正。因此这个陈述不正确。

答案 6-5 艾滋病病毒(人类免疫缺陷病毒，HIV)是一种逆转录病毒，因而利用逆转录酶以 RNA 为模板合成 DNA。这导致病毒基因组经常突变。事实上，艾滋病患者经常带有 HIV 的多种不同变体，这些变体在遗传上已和原先感染他们的病毒大不相同。这给治疗艾滋病感染带来了很大的问题：阻断病毒所必需酶类的药物只能暂时起作用，因为通过突变很快产生对这些药物有抗性的新病毒株。

RNA 复制酶(以 RNA 为模板合成 RNA 的酶)也不进行校读，因而直接复制 RNA 基因组的 RNA 病毒(不利用 DNA 作为中间体)突变频率也很高。这种病毒倾向于在外壳蛋白中产生突变，对于免疫系统来说，这使突变病毒看起来好像是"新的"；因而这个病毒不被针对以前病毒的免疫性所抑制。这可部分地解释为什么总是有规律地出现流感病毒和普通感冒病毒的新病毒株。

答案 6-6 如果以含有复制差错的新链为模板来"修复"旧链，则这一差错将变成基因组内的永久性突

变。在这一过程中，原有信息将被删除。因此，如果修复酶不分辨两条链，则任何复制差错只有50%的机会被校正。

答案 6-7 这一说法大错特错。只在DNA中引入1%的随机变化并不能将一个物种转变为另一个物种。在没有DNA修复的情况下，每天累计的5000次突变完全不可能正好都落在人与猿DNA序列的差异位置上。而且如此高的突变率将使必须基因失活，从而导致细胞死亡。此外，人体由约10^{13}个细胞构成。将人转变成猿，不仅仅是一个细胞而是许多细胞需要改变。即使如此，许多变化还必须发生在发育过程中以改变人的身体结构(例如，使你的手臂比你的腿长)。

答案 6-8 A. 错。相同的DNA聚合酶分子催化一个细菌复制叉的前导链和后随链上的DNA合成。复制叉非对称是因为后随链以片段合成，最后缝合在一起。

B. 错。RNA核酸酶仅去除RNA引物。冈崎片段是新合成的DNA片段，最终连在一起形成新的后随链。

C. 对。DNA聚合酶聚合核苷酸的出错率约为$1:10^7$，DNA修复酶能校正约99%的差错，从而使最终的出错率为$1:10^9$。

D. 对。突变会快速积累，摧毁这些基因。

E. 对。如果在DNA上也自然地发生一个损坏的核苷酸，修复酶就无法识别损伤。因此它只会有50%的机会正确修复。

F. 对。通常情况下，一种细胞在转变为癌细胞前要积累特定类型的多重突变。编码DNA修复酶的突变可能使一种细胞倾向于积累更多突变，从而加速癌症的发生。

答案 6-9 如果只有一个复制起始位点，两个DNA聚合酶沿相反方向每秒移动100个核苷酸，24 h内能复制的核苷酸数是1.73×10^7($=2\times100\times24\times60\times60$)。因此，要在24 h内复制细胞内$6\times10^9$个核苷酸，至少需要348($=6\times10^9/(1.73\times10^7)$)个复制起始位点。人基因组内估计约由10 000个复制起始位点，这一数目对满足最低要求来说绰绰有余。

答案 6-10 A. 化合物A是双脱氧胞嘧啶三磷酸(ddCTP)，与dCTP基本相同，只是在糖基环上缺少一个3′-羟基基团。DNA聚合酶将ddCTP视为dCTP并将之掺入DNA，但由于没有关键的3′-羟基基团，它的掺入将在增长的DNA链上产生一个死端，别的核苷酸将无法掺入。因此，如果ddCTP被人为过量地加入反应中，DNA合成将进行直到遇上模板链中第一个G(与C互补的核苷酸)，ddCTP将替代C掺入，这条链的延伸将终止。

B. 如果ddCTP是dCTP浓度的10%，那么当模板链出现一个G时，有1/10的机会掺入ddCTP。这样将合成一组DNA片段。分析它们的长度，就可推知模板链上G的位置。这一策略即是DNA序列测定方法的基础(在第10章讨论)。

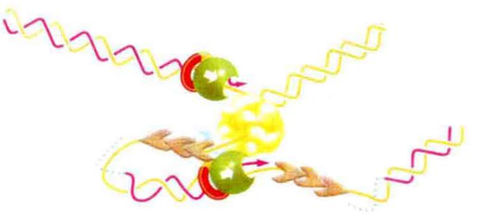
目前广泛应用于HIV感染患者以治疗艾滋病的药物3′-叠氮-3′-脱氧胸苷(AZT)利用了同样的化学现象。在细胞内AZT被转化为三磷酸形式并掺入伸长的病毒DNA。由于这种药缺乏3′-OH基团，它就能阻断DNA合成和病毒的复制。由于逆转录酶与药物之间的亲和力比与胸苷三磷酸之间的亲和力要大，所以AZT就能优先抑制病毒的复制；人类细胞DNA聚合酶没有显示出这种优先性。

C. 化合物B是双脱氧胞嘧啶单磷酸(ddCMP)，它缺少5′-三磷酸基团和糖环的3′-羟基基团。因此它不能给核苷酸生成DNA的聚合反应提供能量，所以也就不参与复制DNA。故认为这种化合物的加入不会影响DNA复制。

答案 6-11 如果把水解3′-磷酸基团的能量用于聚合反应，DNA链必须以相反方向延长，即3′→5′。然后在理论上通过5′→3′核酸酶活性进行校读。这一流程和图6-15左边显示的相同，不同的是图中的三磷酸基团在DNA和新掺入的核苷三磷酸的右边。

答案 6-12 见图A6-12。

1. 冈崎片段合成开始



2.冈崎片段合成中点

图 A6-12

答案 6-13 细菌染色体的双链各含6×10^6个核苷酸。在核苷三磷酸合成DNA的聚合反应中，每加一个核苷酸就有两个磷酸酸酐键被打开，核苷三磷酸被水解后生成的核苷单磷酸加到延长的DNA链上，

释放出的焦磷酸被水解生成磷酸。因此，在细菌 DNA 复制的每一轮中，有 1.2×10^7 个高能键被水解。这一过程需要 4×10^5（$=1.2\times10^7/30$）个葡萄糖分子，约重 1.2×10^{-16} g［$=4\times10^5$ 个分子×(180 g/mol) / (6×10^{23} 个分子/mol)］，是细胞总重量的 0.01%。

答案 6-14 这个陈述是正确的。如果体细胞中的 DNA 不够稳定(如果它积累突变过程过快)则生物体死亡(例如，死于肿瘤)，因为这些也常发生在生物繁殖之前，这样该物种将会灭绝。如果生殖细胞中的 DNA 不够稳定，就会积累许多突变并遗传给后代，所以该物种将不会保持下去。

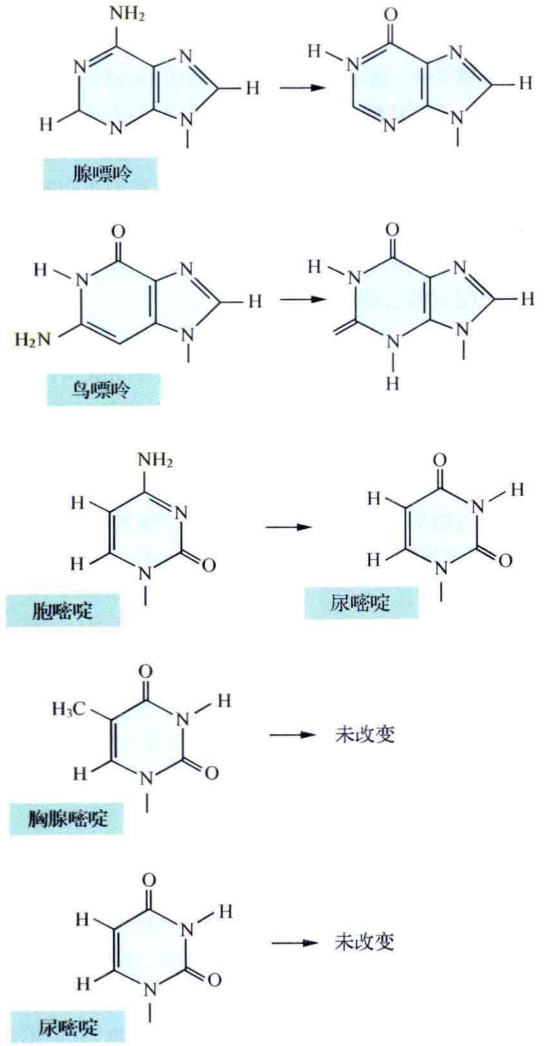


图 A6-15

答案 6-15 如图 A6-15 所示，胸腺嘧啶和尿嘧啶不含氨基基团，因此不会被脱氨。腺嘌呤和鸟嘌呤的脱氨反应产生核酸所没有的嘌呤环。相反，胞嘧啶的脱氨反应产生尿嘧啶。因此如果尿嘧啶是 DNA 中天然存在的碱基，修复酶不能区分一个尿嘧啶是正确的碱基还是通过胞嘧啶自发的脱氨反应所产生的。然而，这个难题是不会遇到的，因为胸腺嘧啶被用于 DNA，所以如果在 DNA 中发现一个尿嘧啶，它可被自动识别为一个被损坏的碱基从而被切除并用胞嘧啶代替。

答案 6-16 A. 由于 DNA 聚合酶合成 DNA 需要一个 3′-OH，没有端粒和端粒酶，染色体末端在每一次复制时都会缩短(图 A6-16)。细菌染色体没有末端，因而不存在这个问题；总是有一个 3′-OH 可引导 DNA 聚合酶以 DNA 代替 RNA 引物。端粒和端粒酶能防止染色体的萎缩，因为端粒酶在 DNA 链的 3′端延伸(图 6-18)。这种后随链模板的延伸为起始最后的冈崎片段提供了“空间”。

B. 如图 A6-16 所示，即使后随链的最后片段是由引物酶在染色体 DNA 的 3′端起始合成的，则仍需要端粒和端粒酶，因为必须移除 RNA 引物。

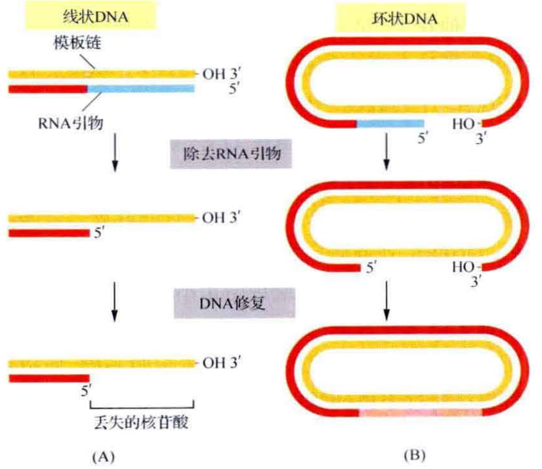


图 A6-16

答案 6-17 病毒不能作为自由生活的生物体存在：它们没有新陈代谢，不会和其他病毒联系，不能自我繁殖，因此它们不具备与生命有常规关联的特征。事实上，它们甚至能被结晶出来。在胞内，它们使正常的细胞生物合成活动改变方向，使之制造更多的病毒拷贝。因此病毒表现出的唯一的“生命”特征就是它们一旦在胞内就能指导它们自我繁殖的能力。

答案 6-18 每次转座子的又一个拷贝插入一条染色体，对生物体可能会产生中性的、有益的或有害的变化。由于积累了有害插入的个体会被筛选出来，所以转座子的增殖受自然筛选的控制。如果转座子发生不可控的增殖，一个活的宿主生物体根本无法生存。因

为这个原因，就演变成大多数转座子很少发生转移。例如，许多转座子只难得地合成少量为它们移动时所需的转座酶。

答案 6-19 A. 如果唯一的复制起始点刚好位于染色体的中间，则复制 DNA 需用 8 天多的时间[$=75\times10^6$ 核苷酸/(100 核苷酸/s)]。因此复制速率将严重地限制细胞分裂的速率。如果复制起始点位于一端，则复制 DNA 所需的时间大概是这个时间的 2 倍。

B. 如果染色体末端没有端粒"帽子"，则在每一轮 DNA 复制中都会丢失一些核苷酸，染色体会逐渐萎缩。最终，会丢失必需基因，导致细胞死亡。

C. 着丝粒的作用是把复制产生的两条新染色体连到有丝分裂纺锤体上，如果没有着丝粒，两条新染色体就不能正确分配到两个子细胞中。因此，许多子细胞会因为不能得到完整的一套染色体而死亡。

第 7 章

答案 7-1 可能最好的答案是 Francis Crick 自己给出的，他在 20 世纪 50 年代中期创造了这个术语："我想我把这个概念称作中心法则有两个原因。首先我已经在'序列假说'中使用了这个明确的单词——假说。它提出遗传信息编码在 DNA 碱基的序列中，同时我要说明这个新的概念更重要和更有力……结果，使用'法则'这个词导致了更多不应有的麻烦。许多年以后，Jacques Monod 向我指出我可能没有正确理解'法则'这个词的用法，它应该是指不可被怀疑的信念。我的确是以某种含糊的方式理解这个词的，但我想既然所有的宗教信念都也没有实实在在的基础，所以我就按自己对这个单词的理解而不是众人所理解的那样使用它，将它用于一个重要的假说，该假说尽管言之有理，但在当时还很少有直接的实验支持。"(Francis Crick. *What Mad Pursuit*: *A Personal View of Scientific Discovery*. Basic Books, 1988.)

答案 7-2 RNA 聚合酶确实一点没有移动，因为它们被制备电镜观察样本时用的金属所固定和包埋。然而，在它们被固定之前，就像在 RNA 转录本逐渐延伸过程中看到的那样它们从左往右移动。

RNA 转录物比较短是因为它们在合成时已开始折叠(也就是说，获得了三维结构)(如图 7-5)，而 DNA 则是一个伸展的双螺旋。

答案 7-3 乍一看，RNA 聚合酶在转录时的催化活力可以替代引物酶。然而仔细再想，这里存在几个严重问题：①用作合成引物的 RNA 聚合酶需要每隔数百个碱基就起始一次，这比启动子在 DNA 上的间隔要频繁得多。因此起始作用需要以一种不依赖启动子的方式进行，或者要有更多的启动子分布在 DNA 上，两者都会对转录的调控产生问题。②相似地，在复制中使用的 RNA 引物比 mRNA 短得多。因此，RNA 聚合酶要比转录时更频繁地终止。终止必须自发发生，也就是说毋需在 DNA 上有终止子序列，或者需要有更多的终止子存在。这两种景象又都会使转录调控产生问题。

尽管这个问题可能可以让特殊的调控蛋白在复制时和 RNA 聚合酶结合来解决，但在进化中是通过分别采用各具专一特性的酶来解决的。不过有一些小的 DNA 病毒的确使用宿主的 RNA 聚合酶为它们的复制合成引物。

答案 7-4 这个实验表明，核糖体不会核查连接到 tRNA 上的氨基酸。一旦一个氨基酸连接到一个 tRNA 上，核糖体就"盲目地"根据密码子与反密码子匹配，在这个位置上掺入该氨基酸。由此我们可以推断：正确阅读出遗传密码子的很重要的一步，即一个密码子与一个正确的氨基酸对应，这是由使 tRNA 和氨基酸正确配对的合成酶完成的。

答案 7-5 这个 mRNA 将会有不同于作为模板的那条 DNA 链的 5′→3′极性。所以，这个 mRNA 序列是 5′-GAAAAAAGCCGUUAA-3′。N 端氨基酸是谷氨酸由 GAA 编码。UAA 编码终止子，所以 C 端氨基酸是由 CGU 编码的精氨酸。注意一般描述一个基因的序列是指那条不用作 RNA 合成模板的 DNA 链的序列，该序列除了用 T 替换 U 外，其余和 RNA 转录物一致。

答案 7-6 第一个陈述实际是正确的：RNA 曾被认为是第一个自我复制的催化剂，在现代细胞中不再自我复制。当然我们可以争论，这是否意味"失去"，因为在现代 RNA 在细胞中担任多种任务：作为信使、衔接合成蛋白、作为 DNA 复制时的引物，并且催化细胞中一些最基础的过程。

答案 7-7 A. 错。核糖体能够合成任何由特定 mRNA 翻译的特定蛋白质。所有的核糖体都是相同的，可以合成任何由特定 mRNA 翻译的指定蛋白质。翻译后，核糖体从 mRNA 上释放出来，然后开始翻译另外的 mRNA。

B. 错。mRNA 被翻译时是线性聚合物，它们不需要形成任何特殊折叠结构。实际上，mRNA 形成这样的结构会抑制翻译，因为核糖体必须解开 mRNA 以获取其所包含的信息。

C. 错。在每一轮翻译后，核糖体的亚基会变换相伴的蛋白质。当核糖体从一条 mRNA 链上释放下来

后，它的两个亚基解体，进入一个含游离大亚基和小亚基的库，从那里围绕一条新的 mRNA 形成新的核糖体。

D. 错。核糖体是细胞质里的细胞器，但它们不是单个地包在一层膜里。

E. 错。转录启动子的位置决定了转录进行的方向及以哪条 DNA 链作为模板链。按相反方向进行转录会产生序列完全不同的（也可能是无意义的）mRNA 链。

F. 错。RNA 含有尿嘧啶而不是胸腺嘧啶。

G. 错。蛋白质的含量取决于合成和降解的速率，而不是它的催化活力。

答案 7-8 由于 Lacheinmal mRNA 的缺失是内部缺失，所以有可能是由剪接缺陷引起的。最简单的解释是 *Lacheinmal* 基因含有一段长 173 个核苷酸的外显子（在图 A7-8 中标为“E2”），并且这个外显子在突变的 mRNA 前体的加工过程中丢失。例如，如果突变改变了它正在剪切的那个内含子（“I1”）的 3′剪接位点，以至于它不能被剪接机制识别（如图 7-15 所示 CAG 序列上的改变可以做到这点）。snRNP 会搜索下一个可能的 3′剪接位点，它会是在下一个内含子（“I2”）的 3′端，这样剪接反应就会把 E2 连同 I1、I2 一起切除，结果产生一个缩短了的 mRNA。这个 mRNA 翻译出一个有缺陷的蛋白质，导致 Lancheinmal 缺陷。

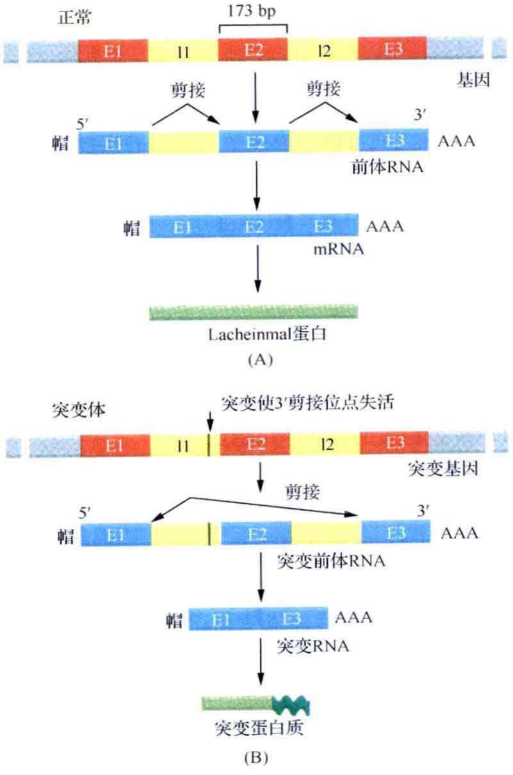


图 A7-8

因为 173 个核苷酸不等于密码子碱基的整数，缺少了这个外显子的 mRNA 会在剪接处移动读框，所以只有通过外显子 E1 合成的 Lacheinmal 蛋白才是正确的。当核糖体开始翻译外显子 E3 中的序列时，有可能按不同的读框而产生与外显子 E3 正常编码的 Lacheinmal 序列无关的蛋白序列。更有可能的是，核糖体会很快碰到一个终止密码子，而在不编码蛋白质的 RNA 序列中，终止密码子预期为每平均 21 个密码子出现一次。（64 个遗传密码中有 3 个终止密码子。）

答案 7-9 序列 1 和序列 4 都编码 Arg—Gly—Asp 多肽。因为遗传密码是冗余的，不同的核苷酸序列可以编码相同的氨基酸序列。

答案 7-10 A. 错。这些键不是共价连接的，它们的形成不需要输入能量。

B. 对。氨酰-tRNA 在 A 位点进入核糖体。

C. 对。核糖体沿着 mRNA 移动，已经向延伸的多肽链提供氨基酸的 tRNA 从核糖体和 mRNA 上释放出来。该释放发生在 tRNA 第一次进入核糖体 2 个循环后（图 7-33）。

答案 7-11 复制：字典定义为产生一份完全相同的拷贝；分子生物学定义为产生一份重复的 DNA 的行为。

转录：字典定义为写出一份拷贝的行为，特指从一种物理形式到另一种物理形式；分子生物学定义则是把储存在 DNA 中的信息拷贝到 RNA 的行为。

翻译：字典定义，用另一种语言表述词语的行为；分子生物学定义，依据 mRNA 中核苷酸线性序列提供的信息把氨基酸聚合成一个特定的线性序列的行为。（注意“translation”在普通语言和科学用语中还有另一个不同的意思，即从一个地方到另一个地方的移动。）

答案 7-12 两个核苷酸组成的密码可编码 16 种不同的氨基酸（$=4^2$）；一个三联体密码若其核苷酸位置不重要，可以编码 20 中不同的氨基酸（=3 个相同碱基的 4 种可能性+2 个碱基相同 1 个不同的 12 种可能性+3 个不同碱基的 4 种可能性）。在上面两种情况中，因为还需要确定翻译终止密码子，所以它们编码的最大氨基酸数目至少还需减掉 1 个。比较容易设想二联密码子可被与目前所用机制相仿的机制所翻译，倘若 tRNA 的反密码子环只有两个有关的碱基就可以做到这一点。但是很难设想由三核苷酸组成的一条核苷酸链可以不顾其核苷酸的排列次序而得到翻译，因为碱基配对在这里不再适用：例如，密码子 AUG 不会与 UGA 这样的反密码子配对。

答案 7-13 很可能早期细胞的密码子和氨基酸之间的配对比现今细胞要不精确。在问题中描述的遗传密码的特点可能允许早期细胞通过让一组大致相仿的密码子和一组大致相似的氨基酸之间仅有一种模糊的关系来容忍这个错误。人们可以容易地想象到密码子和氨基酸之间的配对可以一步一步地变得更为准确，直到演化出现代细胞中发现的翻译机器。

答案 7-14 色氨酸的密码子是 5′-UGG-3′，所以，通常一个 Trp-tRNA 以 5′-CAA-3′ 作为它的反密码子。如果这个 tRNA 因一个突变而使它的反密码子变成了 UCA，它就会识别一个 UGA 密码子，并导致色氨酸残基的掺入而不是终止翻译。然而许多其他编码蛋白质的序列含有密码子 UGA，作为它们正常的终止部位，这些终止部位也会受突变了的 tRNA 的影响。依靠改变的 tRNA 和正常翻译释放因子之间的竞争(图 7-37)，这些蛋白质中的一部分会在它们的羧基端加上多余的氨基酸。多余的长度取决于核糖体遇到正在翻译的 mRNA 读框内的一个非 UGA 终止子之前的密码子数目。

答案 7-15 促使一个反应完成的有效方式是移去其中一个产物，使逆反应不能发生。ATP 含有两个连接三个磷酸基团的高能键。在这里的反应中，PP_i 被释放，它含有两个磷酸基团，并由一个高能键相连。PP_i 可被水解而获得相当大的自由能，得以被有效地移去。这个反应在细胞中发生得很快，产生并进一步水解 PP_i 的反应实际上是不可逆的(在第 3 章中讨论)。

答案 7-16 A. 一个肌联蛋白分子有 25 000 个氨基酸，在肌细胞中，合成一个肌联蛋白分子需 3.5 h。

B. 由于它的分子很大，合成一个不出任何差错的肌联蛋白分子的概率只是 $0.08[=(1-10^{-4})^{25\,000}]$，也就是说，每 100 个肌联蛋白分子，仅 8 个分子不出错。相反地，新合成的普通大小的蛋白质分子 97% 是正确的。

C. 出错比例限制了能被正确合成的蛋白质分子的大小。像肌联蛋白一样，如果真核核糖体蛋白作为一个单一的分子被合成，大多数(87%)假定的巨型核糖体蛋白会至少带有一个错误。所以一个一个单独地合成核糖体蛋白会更有利些，因为在这种方式下，各种蛋白质仅有很少一部分会有缺陷，而这些数量不多的出错分子可以分别通过蛋白酶解被剔除，以保证核糖体作为整体无缺陷。

D. 要计算转录肌联蛋白分子的转录所需时间，你需知道这个基因的大小，它可能含有很多的内含子。仅转录外显子需耗时 42 min。因为内含子可以很大，转录整个基因的时间可能长得多。

答案 7-17 (B)和(D)中描述的突变通常最有害。在这两种情况中，读框会被改变，并且由于这种读框移位发生在编码序列的开始处或中间位置上，蛋白质中的大部分将带有无意义与/或截短的氨基酸序列。相反地，发生在编码序列末尾的读框移位，像情景(A)中所描述的会产生一个大部分正确的有功能的蛋白质。缺失三个连续的核苷酸，情景(C)，会引起一个氨基酸的缺失，但不改变读框。缺失的氨基酸对蛋白质的折叠或活性可能重要也可能不重要。很多情况下，这样的突变是沉默的，也就是说它们对生物体没有或有很小的影响。像(E)那样由一个核苷酸替换另一个，通常是完全无害的。在一些情况下，它不会改变蛋白质的氨基酸序列；在另一些情况下，它会改变一个氨基酸；而最坏的情况是，它可能产生一个新的终止密码子，导致合成一段截短的蛋白质。

第 8 章

答案 8-1 A. 色氨酸操纵子的转录将再也不受到色氨酸存在与否的调控。在(1)和(2)中，酶将永远被开启；在(3)中，酶将永久关闭。

B. 在(1)和(2)中，正常的色氨酸阻抑物分子将会完全恢复色氨酸合成所需酶的调控。相反的在(3)中，正常蛋白质的表达将没有任何效果。这是因为色氨酸操纵子将始终被突变的蛋白质所占据。

答案 8-2 在蛋白质与暴露在 DNA 大沟中的碱基对的边缘之间可以形成接触。形成的接触如图 A8-2 所示。引起序列专一性接触的是氢键及与胸腺嘧啶的嘧啶环上的甲基发生的疏水作用。请注意 T-A 对中氢键供体和氢键受体的排列是与 C-G 对不同的。类似地，A-T 对和 G-C 对中氢键供体和受体的排列互不相同，也和图中所示的两对不同。除了图中所示的接触外，蛋白质中带正电的氨基酸侧链和 DNA 主链上带负电的磷酸基团之间形成的离子相互作用，通常使 DNA-蛋白质的相互作用稳定。

答案 8-3 弯曲蛋白能把相距较远的通常不能形成有效接触的 DNA 区域拉到一起(图 A8-3)。此蛋白质在原核和真核生物中都有发现参与转录调控的许多实例。

答案 8-4 A. 紫外线使原噬菌体转变到裂解状态：cI 蛋白被破坏时，就形成 Cro 并且停止新的 cI 的合成。病毒开始合成外壳蛋白，新的病毒颗粒形成。

B. 当遮断紫外线时，病毒仍停留在裂解状态。因而，cI 和 Cro 形成一个能“记住”以前设置的基因调控开关。

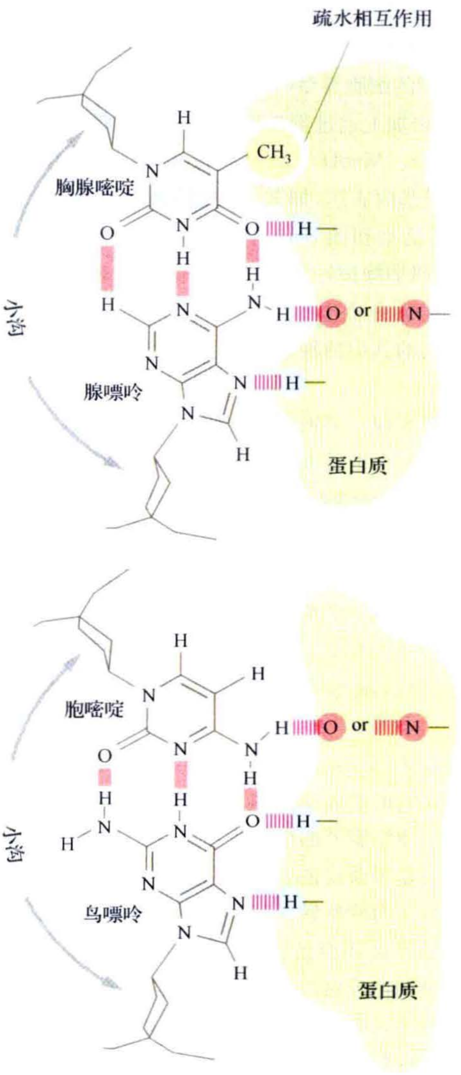


图 A8-2

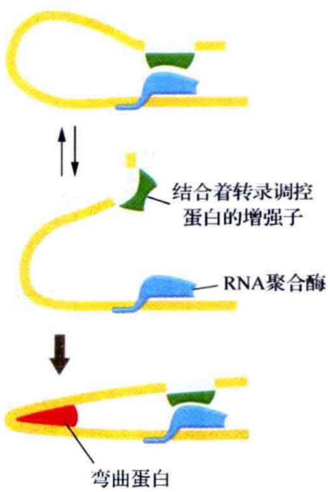


图 A8-3

C. 在病毒生活史中此开关是很有意义的：紫外线易破坏细菌 DNA(图 6-24)，从而把细菌变成对病毒不可靠的宿主。因此原噬菌体病毒转变到裂解状态，离开这“将沉没的船”，以寻找一个新的供感染的宿主细胞。

答案 8-5 错误。单个的胡萝卜细胞可以长成一个胡萝卜，通过注射来自蛙分化细胞的细胞核到蛙卵中，可以产生蝌蚪。但是胡萝卜永远不会从蛙卵中生成，无论如何也不会。

答案 8-6 A. 正确。原核 mRNA 常常是整个操纵子的转录物，核糖体可以在这些“多聚操纵子”mRNA 的内部 AUG 起始部位启动翻译(图 7-36，图 8-6)。

B. 正确。双链 DNA 的大沟足够宽，使蛋白质的表面，如 α 螺旋的一面，能够接近碱基对。

C. 正确。在一条途径中尽可能早的位点上进行控制是有利的，这样可以节省代谢能量，因为没有合成不必要的产物。

D. 错误。锌指结构域中的锌原子是蛋白质结构域中正确折叠所需的，它们在这些结构域的内部，并不和 DNA 接触。

答案 8-7 根据对已知的增强子的了解，我们预期它的功能相对独立于它与启动子之间的距离。它们相距越远，可能功能就越弱。数据(来自真实的试验)中令人惊奇的性质是周期性：当增强子与启动子部位达一定距离时(50、60 或 70 核苷酸)，增强子的活性最大，但是在中间距离(55 或 65 核苷酸)时几乎失活。

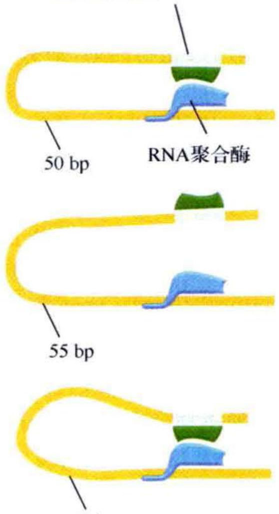


图 A8-7

10 个核苷酸的周期性提示这个神秘的现象可以通过考虑双螺旋 DNA 的结构来揭示，因为双链 DNA 每一圈大约为 10 个碱基对。如果让一个增强子位于启动子相反方向 DNA 上（图 A8-7），会使它更难与结合在启动子上的蛋白质相互作用。但如果距离再远一些，就有更多的 DNA 参与扭曲，于是这种效应消失。

答案 8-8 二聚的 DNA 结合蛋白的两大优势为：①二聚化的形成极大地增强了蛋白质-DNA 相互作用的特异性和力度，因为二聚化使得蛋白质-DNA 接触的数目是单体的 2 倍。②几个不同的亚基能结合成不同的组合，增加细胞中 DNA 结合特征的数目。最常见的和 DNA 结合有关的蛋白质结构域有三种：亮氨酸拉链、同源域和锌指。每一种都在多肽链中提供一个特别稳定的折叠，使一个 α 螺旋恰当地位于蛋白质表面，所以它能插入 DNA 螺旋的大沟并和碱基对的边缘接触（图 8-5）。

答案 8-9 二聚化的 λ 阻抑物和它的结合位点的亲和力是两个 DNA 结合结构域造成的相互作用的总和。单独一个 DNA 结合结构域只造成一半的接触，相对于二聚体来说只能提供一半的结合能量。因此当它们不再偶联在一起时，尽管结合结构域的浓度没有变化，但每一个单独个体对于 DNA 的亲和力就太弱了以至于无法保持结合状态。结果就是，裂解途径生长的基因开启了。

答案 8-10 这些 *Arg* 基因的作用是合成精氨酸。当精氨酸充裕的时候，生物合成基因的表达应该被关闭。如果 ArgR 的作用是基因阻抑物（实际上也是），那么与精氨酸结合应该增强它对自身调节位点的亲和力，从而使得它在结合后关闭基因表达。相反，如果 ArgR 的作用是基因活化物的话，那么与精氨酸结合将会减弱对它所调节的 DNA 的亲和力，从而阻止结合并因此关闭 *Arg* 基因的表达。

答案 8-11 该实验的结果是倾向于 DNA 环化模型的。这个模型应该不受蛋白质搭桥的影响（只要在该实验中可以使得 DNA 弯曲就可以了，而这里也正是如此）。另外，扫描或是入口位点模型则被认为是会受到在增强子和启动子之间连接的性质所影响。如果 RNA 聚合酶进入位点在增强子上，往启动子处扫描，那么它将不得不穿过蛋白质连接。同时如果 RNA 聚合酶这种蛋白质原本适合在 DNA 上扫描，那么它将难以扫描通过这种蛋白质性质的连接。

答案 8-12 最权威的一个实验应该是人们可以将来源于一种特化组织的单个已分化细胞重新长成一个完整的生物。这将证明细胞必定含有形成一个完整生物（包括它所有的特化细胞类型）所需的全部信息。这种类型的实验总结在图 8-2 中。

答案 8-13 用 4 种不同的转录调控蛋白你能创造 16 种不同的细胞类型（在图 8-19 中显示的所有 8 种细胞类型，再加上通过额外的一个转录调控蛋白带来的另外 8 种）。MyoD 本身只能在某些细胞类型中诱导肌肉特异基因表达，如某些类型的成纤维细胞。因此 MyoD 的活动和图 8-19 中所示的类型是一致的。例如，如果肌细胞被转录调控蛋白 1、转录调控蛋白 3 和 MyoD 的组合而特化，那么 MyoD 的加入只能把图 8-19内的其中两种细胞类型（细胞 F 和 H）转变成肌肉。

答案 8-14 基因活化物的诱导刺激它自身的合成从而形成一个正反馈环路，可以产生细胞记忆。连续自我刺激的活化物 A 的合成原则上可以在许多细胞代数间得到维持，其作用如同一件以前发生过的事件的永恒记忆。相反，基因阻抑物的诱导阻抑其自身合成从而形成了一个负反馈环路的，仅仅保证了对于一个瞬时信号的瞬时反应。这是因为阻抑物 R 关闭了自身的合成，细胞将迅速回到接触信号之前的那个状态。

答案 8-15 细胞一直在制造许多转录调控蛋白，也就是说它们的表达是组成型的，蛋白质的活性受来自细胞内或细胞外的信号所控制（例如，对于 Trp 阻抑蛋白来说是可获得的营养，对于糖皮质激素受体来说是激素），从而调整转录活动以适应细胞的生理需求。而且一个转录调控蛋白通常调控许多不同基因的表达。转录调控蛋白常以各种组合方式来使用，并能互相影响活性，这样就能进一步增加以有限几套蛋白质来调控各种基因表达的可能性。不可否认的是，细胞把基因组的大部分都贡献给了转录调控：真核细胞全部基因中估计有 10％编码转录调控蛋白。

第 9 章

答案 9-1 答案在于细胞需要在稳定和变化之间保持平衡。如果突变频率太高，物种最终会消失，因为此物种的全部个体在生存必需基因上积累了太多的突变。从进化意义上说，一个物种如果要成功，对它的个体来说最重要的就是要有好的遗传记忆，即 DNA 复制的保真度，但该物种为了适应环境变化也要能够偶尔导入变异。如果变异导致某种改进，它在自然选择中就可以生存下去；如果变化是有害的，个体作为大自然实验的不幸主角将会死去——但不是整个种群。

答案 9-2 单细胞生物体中基因组就是生殖系，其中的任何修饰都将传递给下一代。相反地，在多细胞

生物体中，体细胞占了绝大多数，在体细胞发生的突变不会传给后代；因此在这些细胞中发生的水平基因转移对后代没有影响。而它们的生殖系细胞都处于多细胞生物体的内部，这些细胞和外界其他细胞、病毒及DNA之间是隔离的，这就使得该物种能够免除受到水平基因转移的影响。尽管如此，在多细胞生物体中还是有可能存在水平基因转移的事件。例如，有的昆虫基因组中就包含了细菌的DNA序列，这是细菌在感染昆虫时发生水平基因转移所导致的。

答案 9-3 任何基因的功能都不是天生完美的。事实上，生物体生存的环境是可变的，因此没有基因可以说是绝对完美的。由于核糖体RNA（及其他高度保守基因的产物）参与的是一些基础的反应过程，因此很少有变化的空间。但尽管如此不同物种间的核糖体RNA还是存在很大的差异的。

答案 9-4 转座因子能够提供同源重组事件的机会，从而引起基因组重排。它们插到基因组中后，可能会消除剪接信号从而改变该基因对应的蛋白质。它们也可能插入一个基因的调节区域，如果在增强子和转录起始位点之间插入，会阻断增强子的功能，降低基因表达的水平。另外，转座因子本身也有可能带有增强子，能够在生物体中改变基因表达的时间和空间。

答案 9-5 从零开始确定一个基因的功能并不是一件容易的事，也没有一个通用的方法可以指导我们如何来做这件事。然而我们有各种各样的标准问题，这些问题的答案将能够帮助我们缩小研究的范围。以下我们列举一些这类问题。

基因在哪些组织中表达？如果基因能够在所有组织中表达，那么它可能实行比较普通的功能。如果基因在一种或少数几种组织中表达，那么其功能可能比较特异。而如果基因只在胚胎而不在成体中表达，它的功能可能涉及发育的某个过程。

基因所表达的蛋白质在细胞内的定位如何？了解蛋白质的亚细胞定位——细胞核、细胞膜、线粒体等——能够提示我们该蛋白质潜在功能的类别。例如，定位在细胞膜的蛋白质可能充当着转运蛋白、信号通路的受体或是其他成员、或是细胞粘连分子等的角色。

基因突变会产生怎样的影响？破坏或改变基因产物功能的突变能够为我们了解基因功能提供线索。例如，如果基因产物在发育的某个阶段是重要的，那么胚胎常常会在这个阶段死亡或是产生显著的异常现象。除非这种异常现象是高度特异的，否则很难推断其功能。而且这种关联常常不是直接的，只有当基因功能已知的情况下才会变得显著。

编码蛋白质和哪些蛋白质之间具有相互作用？蛋白质为了发挥其功能，常常和相同或相关过程中别的蛋白质发生相互作用。如果找到了某种已知功能的相互作用蛋白（来源于以往的研究或是检索数据库），那么我们就能够缩小研究对象的功能范围。

其他基因的突变能否改变这种未知基因突变所产生的影响？寻找这种突变是我们探讨基因功能的一种有效的方法，特别是在遗传系统比较简单的生物体中，如细菌和酵母。虽然在小鼠中这种方法的难度很高，但也可以使用。这种方法的原理与寻找相互作用蛋白是类似的：遗传上相关的基因常常参与相同的或相关的过程。找到一种这样的相关基因（并且功能已知）能够为我们研究未知基因的功能提供重要的线索。

解决每个这样的问题需要具备专业的实验知识，投入大量的时间。如果在数据库中能够找到一个已知功能的相似基因，无疑可以为这一进程缩短大把的时间。而随着越来越多的基因被研究，这一方法也变得越来越有效。

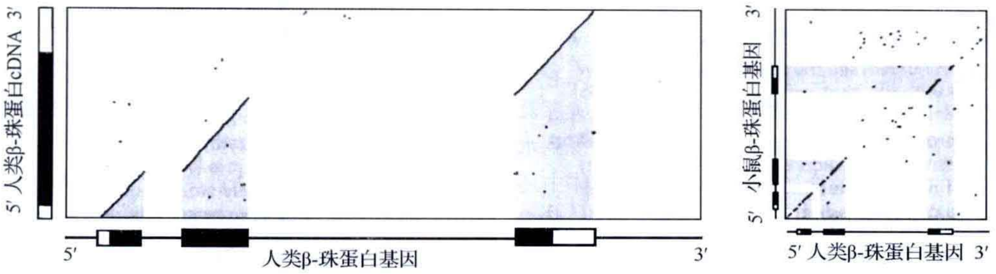
答案 9-6 毫无疑问，由于具有在细胞之间转移核苷酸序列的能力，转座子对现代生物体的进化起了重要的作用。它们促进基因重复，通过外显子混编创造新的基因，还能改变已有基因的表达方式。尽管转座子的转座行为对生物个体常常是有害的——例如，干扰一个关键基因的活性——但是整体上它们对一个物种也有可能是有益的。

答案 9-7 每个基因大约有7.6%的序列将会转录成mRNA[（5.4个外显子/基因×266个核苷酸对/外显子）/（19 000个核苷酸对/基因）=7.6%]。第22号染色体上蛋白质编码序列占了28%[（700个基因×19 000个核苷酸对/基因）/（48×10^6个核苷酸对）=27.7%]。但是，其中超过90%的DNA序列是内含子。

答案 9-8 这一说法可能是正确的。例如，我们大约一半的DNA序列由一些无功能的转座因子构成。但是今后在对这些看似不重要的DNA序列的研究中也有可能会发现一些功能。

答案 9-9 *HoxD*基因簇中存在大规模复杂的调节DNA序列，以调节其中每一个基因在发育过程的合适的时间和位置进行表达。在*HoxD*基因簇中插入转座子被认为是不利于选择进化的，因为这将会破坏对被插入基因的表达调控。

答案 9-10 人类β-珠蛋白基因的外显子对应于该基因同一位置的cDNA具有序列的相似性（这里指一致性），cDNA实际上就是mRNA的一个直接的拷贝，不包括内含子。内含子的那部分序列对应于外显子之



(A) 人类β-珠蛋白cDNA的外显子

(B) 小鼠与人类基因的同源性

图 A9-10

间的区域。图 A9-10A 中标记了人类 β-珠蛋白基因中内含子和外显子的位置。该图同时标记了存在于成熟 β-珠蛋白 mRNA 中(和基因中)不被翻译成蛋白质的序列(空心柱)。

从外显子所在的位置显示,正如图 A9-10A 所标记的,很显然人类 β-珠蛋白基因的前两个外显子和小鼠的 β-珠蛋白基因具有相似性。但是人类 β-珠蛋白的第三个外显子只有前半段与小鼠 β-珠蛋白的基因相同。第三个外显子的相同区域包含了蛋白质的编码序列,而不同部分则是基因 3′端的非翻译区。由于基因的这一部分不编码蛋白质(也不包含调控 DNA 序列),因此其序列不受约束。

人类和小鼠的 β-珠蛋白基因在其 5′端也具有同源性,这一点从图中第一个外显子对应位置相同对角线上成簇的点可以看出(图 A9-10B)。这些序列对应于转录起始点上游的调节区域。在选择压力下的功能性序列比那些没有功能的序列在变异上显得较为缓慢。

从对角区域上显示,人类和小鼠的该基因的第一个内含子长度几乎是一致的,而第二个内含子的长度存在很大差别(图 A9-10B)。如果内含子都具有相同的长度,用来表示序列相似性的线段将会落在同样的对角线上。检测这些线段是否共线的最简单的方法是将该页倾斜,沿着对角线的方向看。至于这种内含子长度的差异是由于小鼠内含子变短了,还是由于人的内含子变长了,或是这两种情况的交互作用,在上述比较中是很难区分的。

答案 9-11 正如你所想的,利用计算机程序寻找外显子是一项复杂的工作。为了能够识别出未知基因,这些程序将结合一些已知基因的统计学信息,例如:

1. 编码基因的外显子具有可读框。如果通过可读框找到的一个氨基酸序列和数据库中的蛋白质序列相吻合,那么这段序列很有可能是一个真的外显子。

2. 略去内含子序列以后,相同基因中毗邻外显子的可读框相互匹配。

3. 内部外显子(包括第一个和最后一个)的末端具有剪接信号;多数情况下(98.1%)在外显子 5′端处是 AG,而在外显子 3′端处是 GT。

4. 编码氨基酸的多个密码子并不具有均等的使用频率。这种密码子偏爱性也能够帮助识别真正的外显子。

5. 外显子和内含子具有特定的长度区域。人类基因外显子平均长度为 120 个核苷酸对。而内含子则更长些:平均长度为 2 kb 的内含子位于包含 30%～40%GC 的基因组区域中,而平均长度为 500 核苷酸对的内含子则位于 GC 含量超过 50%的区域。

6. 蛋白质合成的起始密码子(基本上都是 ATG)与相邻的那些能够促进其被转录因子识别的序列具有统计学上的关联度。

7. 最后一个外显子带有剪切和 poly-A 加尾的信号(常常是序列 AATAAA)。

这些特性的统计学性质,以及基因组中编码序列的低出现率(2%～3%)和可变剪接的出现频率(估计为人类基因的 60%),都使得现在的计算机程序能够在人类基因组中找到 70%以上的外显子,令人印象深刻。

答案 9-12 在一段很长的随机 DNA 序列中,64 个不同密码子的出现频率是相同的。由于这 64 个密码子中有 3 个是终止密码子,因此平均每 21 个密码子中就可能出现一个终止密码子(64/3=21.3)。

答案 9-13 从表面上看,遗传密码对突变的耐受性是一种自然选择的结果。然而另一种合理的假设认为突变耐受是遗传密码的一种宝贵的特性。该推理认为,这实在是一种幸运的事故——大约只有百万分之一的概率——偶尔落在遗传密码身上,使它能够像我们一样会纠正错误。

但是事实上也并不是那么简单。如果变异耐受是构成像人类这样复杂生物体的任何一种密码子所具备的主要特性,那么我们所见的密码子应该也是错误耐

受的。那么稍逊一筹的冻结性事故——产生较为容易出错的密码子——则将生命的复杂性局限在非常简单以致不会思考自己的遗传密码。这类似于宇宙论中的“人择”原理：存在许多宇宙是可能的，但是很少有能够思考宇宙本性的生命形式存在。

除了这些说法以外，还有很多证据显示密码子不是静态的，它们可以对自然选择压力做出响应。在一些生物体的线粒体基因组和核基因组中都发现了标准遗传密码的修改版本。每种情况下，都有一种或几种密码子发生改变，代表和原先不同的氨基酸。

答案 9-14 B. 在典型的真核生物中，从大量无用的非编码 DNA 序列中从头开始形成蛋白质编码基因对于基因进化而言并不是一种主要的方式。

答案 9-15 上表中的突变率通过比较大鼠和人类的序列而得到，表示每 10^9 年中每个位点的核苷酸突变率。比较大鼠和人类几十个基因的非同义突变率，其数值约为 0.8。

A. 由于同义突变并不改变蛋白质的氨基酸组成，因此其对于生物体的整体健康也没有影响，不会被选择淘汰。相反地，非同义突变使得发生突变的氨基酸被一个新的氨基酸所替代，这种替代能够改变所编码蛋白质的功能，影响生物体的健康。由于绝大多数氨基酸替代都会对蛋白质产生不利的影响，因此非同义突变倾向于被选择所淘汰。

B. 组蛋白 H3 的蛋白序列必定已被如此精确地为其功能做了调整以致它所有的氨基酸如果被替代都是有害的，因而被自然选择所淘汰。组蛋白 H3 的这种极端保守性显示它的功能受到严格的约束，可能是由于它与其他蛋白质及 DNA 具有广泛的相互作用。

C. 组蛋白 H3 的基因和其他基因的核苷酸同义突变频率是相同的，这说明该基因并不处在一种“特权”的位置上。

答案 9-16 A. 进化树上所显示的数据(图 Q9-16)反驳了植物血红蛋白来源于水平基因转移的假说。观察进化树上我们更加熟悉的那部分，脊椎动物(从鱼到人类)的血红蛋白具有和其物种自身大致相同的亲缘关系。植物血红蛋白也构成一个独特的群体显示我们已接受的进化关系：大麦是一种单子叶植物，早于双子叶植物(也是豆科植物)大豆、紫花苜蓿、莲花而发生物种分离。因此这种基本的血红蛋白基因实际上在进化的早期就已经存在。图 Q9-16 的进化树显示现代植物和动物的血红蛋白基因来源于同一个祖先。

B. 如果植物血红蛋白通过水平基因转移来源于一种寄生线虫，那么在图 Q9-16 的进化树中植物的基因序列将和这种线虫的序列排列在一起。

答案 9-17 在每一个人类的谱系中，新的突变将以每个细胞世代中每个核苷酸序列 10^{-10} 的突变率而被引入，两个谱系的人之间的差异将以此概率的 2 倍累积。要达到每个核苷酸具有 10^{-3} 概率的差异需要经过 $10^{-3}/(2\times10^{-10})$ 个细胞世代，对应于人类世代就是 $(1/200)\times10^{-3}/(2\times10^{-10})=25\ 000$ 代，或 75 000 年。事实上，我们并不是两个遗传上完全相同的祖先的后代；我们更有可能是一群遗传上已经分离的数量较少的创始人的后代。而更加复杂的分析显示这群创始人大约生活在 150 000 年以前。

第 10 章

答案 10-1 一个基因中的突变并不一定意味着它所表达的蛋白质是缺陷型的。例如，虽然一个密码子突变成另一个，但是其编码的还是同一个氨基酸，所以不会改变蛋白质的氨基酸序列。或者，突变使蛋白质中的一种氨基酸变成另一种氨基酸，但其所在的位置对蛋白质的折叠和功能并不重要。为了评价这样一个突变是否产生突变蛋白的可能性，对已知的人类 β-球蛋白突变信息的了解是必要的。因此，你将需要知道突变基因精确的核苷酸变化，并且这些变化是否会对其编码蛋白质的功能产生已知或者可预测的结果。如果你的配偶有两个正常拷贝的球蛋白基因，那么你的子女有 50%的概率携带你的突变基因。

答案 10-2 A：用 *Eco*R Ⅰ 酶切会产生两种产物：

5′-AAGAATTGCGG　AATTCGAGCTTAAGGGCCGCGCCGAAGCTTTAAA-3′
3′-TTCTTAACGCCTTAA　GCTCGAATTCCCGGCGCGGCTTCGAAATTT-5′

B：用 *Alu* Ⅰ 酶切会产生三种产物：

5′-AAGAATTGCGGAATTCGAG　CTTAAGGGCCGCGCCGAAG　CTTTAAA-3′
3′- TTCTTAACGCCTTAAGCTC　GAATTCCCGGCGCGGCTTC　GAAATTT-5′

C：该序列没有 *Not* Ⅰ 酶切位点。

D：因此利用三种酶进行酶切会产生：

5′-AAGAATTGCGG　AATTCGAG　CTTAAGGGCCGCGCCGAAG　CTTTAAA-3′
3′-TTCTTAACGCCTTAA　GCTC　GAATTCCCGGCGCGGCTTC　GAAATTT-5′

答案 10-3 蛋白质生物化学依然非常重要，因为它将氨基酸序列(可以通过 DNA 序列推导出来)和蛋白质功能特性连接起来。我们仍然做不到准确无误地从氨基酸序列去预测一条多肽链的折叠。所以在多数情况下，关于蛋白质功能的信息，如它的催化活性，是不能简单地从基因序列推导出来的。相反，这些信息必须通过生化实验去分析才能得到。还有，由 DNA 序列推导出来的结构信息也必然是不完整的。比如说，我们不能精确地预测蛋白质的共价修饰、水解过程，与其紧密结合的小分子的存在，或者蛋白质与其他亚基的解离。而且，我们不能精确的预测这些修饰对蛋白质活性的影响。

答案 10-4 A. 再经过1轮的扩增后将会有2灰、4绿、4红和22个黄色的片段；然后再经过1个循环后，会有2灰、5绿、5红和52黄的片段。因此，黄色的DNA片段会呈指数样增长并最终超过其他的反应产物。这些片段的长度是跨在两条引物之间的DNA的长度加上引物的长度。

B. 一条500 bp长的DNA的质量是 5.5×10^{-19} g [$=2\times500\times330$(g/mol)/6×10^{23}(个分子/mol)]。忽略掉扩增反应最初少数几步的复杂性(所产生的较长的产物对最终扩增的总DNA的贡献是微不足道的)，每个扩增循环产物的量大体上是加倍的。因此，$100\times10^{-9}=2^N\times5.5\times10^{-19}$ g，N 表示反应的循环数。解决这个等式就变成了 $N=\log(1.81\times10^{11})/\log(2)$，$N=37.4$。因此，只需要40个循环的PCR扩增就能够从单个分子得到足够量的DNA用于处理和生化分析。整个过程都是自动的，而且在实验室中只需要花费几个小时。

答案 10-5 如果修复酶在质粒复制之前起作用，实际上质粒会被修复的。但是修复酶不能区分DNA的哪条链含有突变而哪条链又是正常的。因此，在转染了错配质粒的半数细胞中，正常基因会被重新恢复，反之在剩下的一半细胞中，正常的一条链会被转换成与突变的一条链相匹配。含有所需突变质粒的细胞可以通过杂交进行鉴定，单链的DNA探针可以区分正常和突变的基因。

答案 10-6 如果双脱氧核糖核苷三磷酸与脱氧核糖核苷三磷酸的比例上升，DNA聚合酶反应被终止的频率会升高，因此会产生较短的DNA链。这种条件容易对反应中离引物比较近的DNA进行测序。反之，降低双脱氧核糖核苷三磷酸与脱氧核糖核苷三磷酸的比例，将会产生较长的DNA片段，从而利于检测离引物较远的核苷酸序列。

答案 10-7 尽管有许多种可能的解释，最简单的一种是DNA探针更倾向于与其相对应的mRNA杂交，这些mRNA在每个细胞中的拷贝数一般是多于该基因的拷贝数的。杂交的不同程度可能反映了基因表达的不同水平。可能构成组织的不同细胞类型中该基因的表达水平不同。

答案 10-8 正如哺乳动物的绝大多数基因一样，吸引酶基因可能含有内含子。细菌中没有去除内含子的剪切装置，因此该基因不能表达出正确的蛋白质。绝大多数哺乳动物的基因要在细菌中表达，必须使用基因的cDNA版本。

答案 10-9 A. 错误。限制性酶切位点是随机分布在基因组中的，或在基因之间，或在基因内部。

B. 正确。DNA在每个磷酸上含有负电荷，使得DNA整体带负电。

C. 错误。从cDNA文库分离的克隆不含启动子序列。这些序列不会被转录，因此不会成为mRNA的一部分，而mRNA正是合成cDNA的模板。

D. 正确。每轮聚合酶反应所产生的双链DNA产物都必须解链，以允许新的引物与其杂交而使DNA链得到进一步的扩增。

E. 错误。利用识别4个核苷酸序列的限制性核酸酶酶切基因组DNA所产生的片段长度平均是256个核苷酸。但是，实际产生的片段长度在这个平均值的上下有较大浮动。

F. 正确。首先需要用逆转录酶将mRNA转化成单链DNA，然后利用DNA聚合酶补齐第二条链。

G. 正确。利用足够多的STR，个体可以进行独特的指纹识别(图10-19)。

H. 正确。如果组织中的细胞不转录该基因，那么由该组织制备的cDNA文库中就不会含有该基因。但是，它会存在于由该组织制备的基因文库中。

答案 10-10 A. DNA从5′端到3′端的序列是从凝胶的底端开始读的，也就是最短的DNA片段迁移到的地方。每条带都是合适的双脱氧核苷三磷酸嵌入的结果，并且认为任何两条带都不具有相同的迁移性。这使得我们可以按照严格的条带顺序，从凝胶的底部往上读取，并根据每条带所在的泳道确定是哪一种核苷酸，从而最终确定DNA的序列。

上面一条链(图A10-10A)的核苷酸序列是从图Q10-10中直接获得的，下面一条链是根据碱基互补配对原则推导出来的。

B. 然后这些DNA序列就可以根据遗传密码子翻译成氨基酸序列。但是，有两条DNA链可以转录成RNA，并且每条链有3种可能的读码框。原则上这段DNA可以翻译出6种氨基酸序列。由上面一条链翻译的三种可能的读码框中，只有一种是不被终止密码子打断的(图A10-10B的黄色区域)。

而对于下面一条链，三个读码框中有两个含有终止密码子(未显示)。第三个读码框给出以下的序列：

SerAlaLeuGlySerSerGluAsnArgProArgThrProAlaArgThrGlyCysProValIle

从已知的信息中是不能够确定两个读码框中的哪一个对应于这段DNA所实际编码的蛋白质。还需要做什么实验才能区分开这两种可能性？

答案 10-11 A. 利用 *Hae* Ⅲ 酶切割人类基因组DNA将会产生 11×10^6 种不同的片段[$=3\times10^9/4^4$]，*Eco*R Ⅰ 会产生730 000种不同的片段[$=3\times10^9/4^6$]，而 *Not* Ⅰ 会产生46 000个不同的片段[$=3\times10^9/4^8$]，

```
5′-TATAAACTGGACAACCAGTTCGAGCTGGTGTTCGTGGTCGGTTTTCAGAAGATCCTAACGCTGACG-3′
3′-ATATTTGACCTGTTGGTCAAGCTCGACCACAAGCACCAGCCAAAAGTCTTCTAGGATTGCGACTGC-5′
```

(A)

```
DNA的5′端的顶链                                                    3′
  TATAAACTGGACAACCAGTTCGAGCTGGTGTTCGTGGTCGGTTTTCAGAAGATCCTAACGCTGACG
1 LeuLysLeuGluAsnGlnPheGlnLeuValPheValValGlyPheGlnLysIleLeuThrLeuThr
2  IleAsnTrpThrThrSerSerSerTrpCysSerTrpSerValPheArgArgSer   Arg
3      ThrGlyGlnProValArgAlaGlyValArgGlyArgPheSerGluAspProAsnAlaAsp
```

(B)

图 A10-10

当然也会产生一些额外的片段，因为来自母源和父源的染色体虽然很相似但是DNA序列并不完全相同。

B. 将会产生一组重叠的DNA片段。由这些相互重叠的片段构建的文库是十分有价值的，因为利用它们可以将克隆的序列与其在基因组中原始的位置信息对应起来，从而得到一段较长的DNA片段的序列(图10-27)。

答案 10-12 通过与分子量标记进行比较，我们发现 *Eco*R Ⅰ处理后产生了4 kb和6 kb两条带；*Not* Ⅰ处理后产生了一条10 kb的带；利用 *Eco*R Ⅰ和 *Not* Ⅰ同时处理产生了6 kb、3 kb、1 kb三条带。依次计算得每条泳道的片段长度的和为10 kb。因此原始的DNA分子的长度一定是10 kb(10 000核苷酸对)。因为用 *Not* Ⅰ处理只产生了一个10 kb的条带，可以推测原始的DNA分子是线性的，并且不含有 *Not* Ⅰ的酶切位点。但是我们通过 *Eco*R Ⅰ和 *Not* Ⅰ双酶切的结果可以排除这一可能性。我们知道单用 *Eco*R Ⅰ进行酶切产生6 kb和4 kb的两条片段，而双酶切时4 kb的片段进一步被 *Not* Ⅰ酶切为3 kb和1 kb的片段。因此DNA含有一个 *Not* Ⅰ酶切位点，所以该分子必须是环状的，当用 *Not* Ⅰ进行酶切时只产生一条10 kb的条带。图A10-12显示的就是将这些酶切位点定位在环状的DNA分子上的图谱，经过酶切后就会产生大小合适的片段。

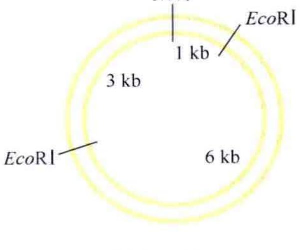


图 A10-12

答案 10-13 A. 遗传密码是简并性的，除了色氨酸和甲硫氨酸之外，每个氨基酸都有不止一个密码子。因此，为了检测编码蛋白质氨基酸序列的核苷酸序列，需要准备多种DNA分子，并将其混合起来，以确保这些混合物中含有一个能够与基因的DNA序列完全匹配的分子。对于问题中给出的三个多肽序列，需要合成以下几条探针(同一位置的替代碱基提供在括号中)：

多肽 1：

5′-TGGATGCA(C, T)CA(C, T)AA(A, G)-3′

因为有三处双重的简并性，在混合物中你需要8种($=2^3$)不同的DNA序列。

多肽 2：

5′-(T, C)T(G, A, T, C)(A, T)(G, C)(G, A, T, C)(A, C)G(G, A, T, C)(T, C)T(G, A, T, C)(A, C)G(G, A, T, C)-3′

代表2号多肽序列的混合物要复杂得多。亮氨酸、丝氨酸、精氨酸都是6个不同密码子编码的；因此你需要合成7776($=6^5$)个不同的DNA分子。但是事情却并非是简单地替换各个位置上的核苷酸，因为每个密码子上不同的碱基对并不是独立的。(例如，丝氨酸，密码子的第一位是A或者T，第二位是G或者C，第三位是G、A、T或者C；当第一位是A时，第二位的碱基总是G，而第三位也只能是T或者C。)

多肽 3：

5′-TA(C, T)TT(C,T)GG(G, A, T, C)ATGCA(A, G)-3′

因为有三处双重简并，一个四重简并，所以在混合物中你需要32个($=2^3\times4$)不同的序列。

首先你可能会用1号探针去杂交筛选你的文库。因为只有8种可能的DNA序列，正确序列对错误序列的比例是最高的，从而给你最好的机会去找到匹配的克隆。2号探针几乎是无用的，因为DNA混合物中只有1/7776的概率与所研究的基因完全匹配。你可以用3号探针去验证你得到的克隆是否正确。同时能够与1号和3号探针杂交的文库是很可能含有你所研究的基因的。

B. 已知 3 号多肽序列中包含蛋白质中最后一个氨基酸，这个信息是十分有用的，因为它告诉了你其他两个多肽序列一定是在它前面，也就是，它们一定更加靠近蛋白质 N 端。知道这个顺序是非常重要的，因为 DNA 聚合酶只能从 DNA 引物的 3′延伸；因而，在 PCR 扩增反应中，两个引物的 3′端应该“面对面”(图 10-16)。因此，根据 3 号肽链设计的一条 PCR 引物必须与 3 号探针的序列互补(也就是与序列对应的 3′端的第一个核苷酸与色氨酸的密码子互补)。

5′-(T, C)TGCAT(G, A, T, C)CC(G, A)AA(G, A)TA-3′

同前面一样，这个“引物”将会包含 32 种不同的 DNA 序列，而只有一个与基因完全匹配。1 号探针可用于挑选另外一条引物，2 号探针同样因为它较高的简并性，不适合作引物。

C. 扩增产物的两个末端都是来自于引物，每个长 15 bp。因此，实际扩增的是基因的 cDNA 中 270 bp 的片段。这个序列编码 90 个氨基酸；加上引物所编码的氨基酸总共是 100 个氨基酸。这不大可能代表整个基因。但是，令你满意的是，CTATCACGCTTTAGG 编码的是 2 号多肽。因此这个信息验证了你的 PCR 产物是编码你最初分离的蛋白质的一个片段。

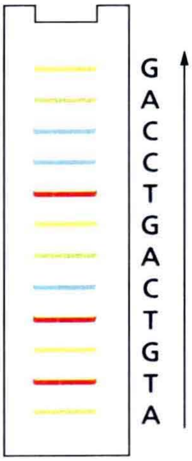


图 A10-14

答案 10-14 产物应该包括大量不同的单链 DNA 分子，而且在序列上相差一个核苷酸。但是，每条 DNA 都只是 4 种颜色中的一种，这主要取决于 4 种双脱氧核苷三磷酸中的哪一种终止了该序列的聚合反应。通过凝胶电泳分离会产生梯状的条带，每条带相差一个碱基，并且序列可以通过颜色的顺序读取出来(图 A10-14)。这里所描述的方法正是大多数自动化的测序仪进行测序的基础(图 10-22)。

答案 10-15 A. 该方法是不适用于 cDNA 克隆的，因为相邻基因的 cDNA 克隆是没有重叠序列的。

B. 这些重复序列会干扰染色体“行走”，因为会造成同时在几个不同方向处岔开。避免这些问题的一般方法是利用基因组的克隆，足够长而且包含了整个重复 DNA 序列。

答案 10-16 A. 2 号和 8 号婴儿具有相同的 STR 模式，因此是同卵双胞胎。3 号和 6 号同样具有相同的 STR 模式，所以也是同卵双胞胎。另外的两组双胞胎因为 STR 模式不完全一致，所以是异卵双胞胎。如同由相同父母生出的任何两个子女，异卵双胞胎基本上一半的基因组是相同的。因而，异卵双胞胎大约一半的 STR 多态性是相同的。根据这个原则，我们可以看出 1 号和 7 号、4 号和 5 号分别是异卵双胞胎。

B. 应用类似 STR 多态性的分析，你也可以将这些婴儿与他们的父母匹配起来。一个婴儿在分析中所显示的每条带都应该与父母中其中一方的条带相匹配，平均地，每个婴儿将会享有每对父母一半的多态性。因而，每个孩子与父母的匹配度大体上与异卵双胞胎之间的相同。

答案 10-17 不产生冰蛋白的突变体细菌可能在自然界中产生过许多次。但是，产冰蛋白的细菌比不产冰蛋白的突变体细菌稍微具有生长优势，因此在野生状态下很难找到这样的突变体。重组 DNA 技术使得我们更容易得到这样的突变体。在这种情况下，利用遗传修饰的生物体的后果，不管是好的还是坏的，就和利用自然界中的突变体一样几乎没有差别。事实上，适用于工业化应用的细菌和酵母品系，如用于奶酪和葡萄酒生产的品系，都是经过了数个世纪的筛选才得到了这些所需要的遗传性状。重组 DNA 技术所带来的可能性是无尽的，但是，同其他任何技术一样，它也具有一定的不可预知的风险。因此，重组 DNA 的实验是需要调控的，在被允许进行实验前，单个项目的风险必须经过审查小组的评估。对于有些操作，如上面例子中提到的破坏细菌的一个基因，我们的知识已经足够领先，是可以比较准确地预知到可能的结果的。而另一些应用，如生殖系的基因治疗纠正人类疾病，则会产生更加复杂的结果，并且需要多年的研究和伦理上的讨论，才能最终确定这类的治疗可不可行。

第 11 章

答案 11-1 水是液体，因此水分子之间的氢键不是静态的；它们不断形成，并不断被热运动破坏。当水分子偶然接近一个疏水分子时，该水分子的运动更受

限制，它周围能与其相互作用的邻近分子更少，因为在疏水分子的方向上不能形成任何氢键。所以它只能与附近更为有限的水分子形成氢键。与较少的邻近水分子结合的结果是形成更为有序的水结构，如图 11-9 描述的笼状结构。这种结构可以比喻成冰，尽管它比微小的冰结晶更短暂、规则程度更低、网络结构更稀疏。形成任何有规则的结构降低了系统的熵值（第 3 章），在能量方面是不利的。

答案 11-2 (B)正确模拟了脂双层的装配，因为涉及的是水分子的排斥力而不是脂质分子间的吸引力。如果脂质分子相互形成键，脂双层的流动性将降低，甚至变成刚性结构，取决于分子间相互作用的强度。

答案 11-3 脂双层的流动性是被严格限定在双层的一个平面的：脂质分子能够在自己的单层侧向扩散，但不容易从一个单层翻转到另外一个单层。因此，除非被一种被称为翻转酶的酶主动翻转，否则嵌入一个单层中的特异类型的脂质分子就一直逗留在该单层中。

答案 11-4 在 α 螺旋和 β 桶中，多肽主链的极性肽键都能被疏水的氨基酸侧链挡住而完全避开脂双层的疏水环境。肽键间的内在氢键稳定了 α 螺旋和 β 桶的结构。

答案 11-5 SDS 中的硫酸基是带电荷的，因此是亲水的。OH 基和 C—O—C 基在 Triton X-100 中是极性的；它们能与水形成氢键因而是亲水的。相反，分子中的蓝色部分不是烃链就是芳香环，它们都没有能与水分子形成氢键的极性集团，因此它们是疏水的（图 A11-5）。

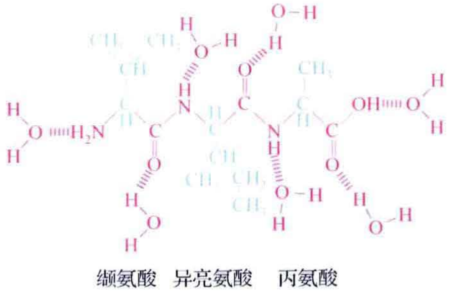


图 A11-5

答案 11-6 蛋白中的 α 螺旋常被用于穿越脂双层。这种结构很适合于这一目的，因为这种结构把疏水氨基酸侧链暴露给脂双层的疏水内部，而把多肽主链的极性肽键与疏水相隔离分开（图 11-22～图 11-25）。然而，还有其他不太常用的方法用于折叠多肽链以达到相同的结果，如光合反应中心内的小环。这说明了测定其三维结构的重要性，到目前为止已知其三维结构的只有少数几个膜蛋白。

答案 11-7 两种不同的跨膜蛋白的一些分子被锚定在细胞皮层的血影蛋白丝上。这些分子不能在其所在的膜平面内自由旋转和扩散。然而，由于膜蛋白的数目大于皮层内可利用的附着位点数，因此一些膜蛋白没有被锚定，它们能在其所在的膜平面内自由旋转和扩散。事实上，膜蛋白的流动性的测量结果表明每种跨膜蛋白各有两类，即锚定的和不锚定的跨膜蛋白。

答案 11-8 图 11-33 概括了膜蛋白被局限在膜的不同区域的几种不同方式。如果膜蛋白被结合在如细胞骨架或胞外基质等其他蛋白上时，它们的运动性就会大大降低。一些膜蛋白被紧密连接等各种屏障限定在特定膜区域。膜蛋白的锚定对于脂双层的流动性影响不大；脂质分子围绕着锚定的膜蛋白流动，就像水围绕着码头的桥墩流动一样。

答案 11-9 所有的陈述都是对的。

A, B, C, D. 脂双层是流动的因为脂双层中的脂质分子都能进行这种运动。

E. 大多数糖脂被限定在背向胞质一侧的膜单层中。一些特殊的糖脂，例如，磷脂酰肌醇（在第 16 章讨论），则专一地定位于面向胞质一侧的膜单层中。

F. 双键的减少（通过氢化作用）使脂质分子相互之间堆积得更紧密，因此增加了黏度——也就是，植物油变成了人造黄油。

G. 例子包括参与信号通路的酶（在第 16 章讨论）。

H. 多糖是黏液的主要成分；由多糖和寡糖组成的细胞糖衣是很重要的润滑剂——例如，对于位于血管壁和在血流中循环的细胞。

答案 11-10 在二维流体中，分子仅能在一个平面自由运动；相反，在正常流体中的分子能做三维运动。

答案 11-11 A. 你会得到一种去垢剂。脂质头的直径会比烃尾的直径大很多，因此该分子的形状是圆锥形而不是圆柱形，分子聚在一起形成微团而不是双层。

B. 形成的脂双层应该更具流动性。脂双层也应该更不稳定，因为较短的烃尾疏水性较弱，因此驱使形成脂双层的力量也减弱了。

C. 形成的脂双层应该具有更弱的流动性。正常的脂双层具有橄榄油的黏度，而由相同脂质组成的但有饱和烃尾的脂双层将具有熏肉脂肪一样的稠度。

D. 形成的脂双层应该更具流动性。同样，由于脂质的聚集性会较差，所以相互之间有更多的空隙，脂双

层也就对水溶性小分子有更大的通透性。

E. 如果我们假设脂质分子完全混合，则该膜的流动性没有改变。然而，在这样的脂双层中，饱和的脂质分子将倾向于相互聚集，因为它们可以非常紧密地挤在一起并因此形成流动性大大降低的小区。因此，这种脂双层在其表面没有均一的特性。由于在膜脂质分子中通常一条饱和的烃尾和一条不饱和的烃尾与同一个亲水头部相连，所以细胞膜中不发生这种隔离。

F. 形成的脂双层实际上其性质不变。现在每个脂质分子会横跨整个膜，它的两个头部基团各自暴露在一个表面。在嗜热菌的膜上发现了这样的脂质分子，这些嗜热菌能生活在接近沸水的温度下。它们的脂双层在高温下并不像普通的脂双层那样会裂开，因为原先的两个单层现在被共价连接成一个单层的膜。

答案 11-12 脂质分子的形状通常是圆柱形的。相反，去垢剂分子是圆锥形或楔形的。例如，仅具有一条烃尾的脂质分子可能会是一种去垢剂。为了把脂质分子变成去垢剂，你必须使其亲水头更大或者去除一条烃尾，这样它可能形成微团。通常去垢剂分子比脂质分子具有更短的烃尾。这使得它们略具水溶性，所以去垢剂分子在水溶液中频繁地进出微团。正因为这样，一些去垢剂单体分子总是存在于水溶液中，因此它们能进入脂双层溶解膜蛋白(图 11-27)。

答案 11-13 当把细菌细胞一端的一个脂质分子与另一端的一个脂质分子之间的脂质分子排列成队时，可以有大约 4000 个脂质分子(每个脂质分子 0.5 nm 宽)。因此，如果它们中的一个分子开始向另一个移动，每 10^{-7} s 与一个邻近分子交换一次位置，要到达另一端仅需要 4×10^{-4} s($=4000\times10^{-7}$ s)。然而，事实上脂质分子是以随机方式移动而不是向着一个确定的方向移动，因此它需要相当长的时间(1 s)到达另一端。如果一个 4 cm 的乒乓球每 10^{-7} s 与其邻近乒乓球交换一次位置，它将会以 1 440 000 km/h($=4$ cm/10^{-7} s)的速度行进。如果它仅朝一个方向行进，则在 1.5×10^{-5} s 内到达另一端，如果它继续前进，就能在大约 2 min 的时间内绕地球一圈。如果它随机行走，将需要相对长的时间到达房间的另一端(约 2 ms)。

答案 11-14 膜蛋白把脂双层锚定在细胞骨架上，加固了质膜，因此当红细胞被泵过小血管时能承受加在它上面的力。同时，膜蛋白也转运营养和离子通过脂膜。

答案 11-15 5 次跨膜 α 螺旋的每个 α 螺旋来源于不同的亚基，这 5 个 α 螺旋的亲水面聚在一起形成穿过脂双层的孔，其上分布着亲水的氨基酸侧链(图 A11-15)。离子能在不接触脂双层的脂质分子的尾部的情况下通过这个亲水孔。疏水侧链则与疏水的脂质分子的尾部相互作用。

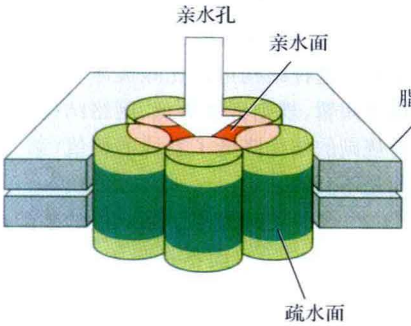


图 A11-15

答案 11-16 膜内对应每个蛋白质分子大约有 100 个脂质分子(磷脂＋胆固醇)[＝(2/50 000)/(1/800＋1/256)]。在许多其他细胞膜上蛋白与脂质的比例也是相似的。

答案 11-17 膜融合并不改变带有色标的膜蛋白的方向：每个跨膜蛋白暴露于胞质面的部分总是暴露于胞质面，暴露于外面的部分仍然暴露于外面(图 A11-17)。0℃时，膜的流动性降低，膜蛋白的混合显著减慢。

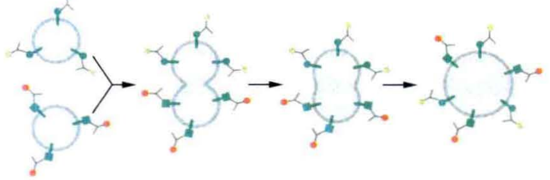


图 A11-17

答案 11-18 疏水氨基酸侧链暴露于水在能量方面是不利的。有两种方法能将这些侧链隔离开水而达到能量方面更有利的状态。第一，它们可以形成穿越脂双层的跨膜片段。这需要大约 20 个疏水氨基酸一连串地位于一条多肽链中。第二，疏水氨基酸侧链可以隐蔽在折叠的多肽链的内部。这是把多肽链封闭在独特的三维结构内的主要力量之一。无论上述哪种情况，脂双层内或者蛋白质内部的疏水作用力都遵循相同的原理。

答案 11-19 (A)南极鱼类生活在零下温度条件下，它是冷血动物。为了在零下温度条件下保持膜的流动性，它们含有高比例的不饱和磷脂。

答案 11-20 序列 B 最容易形成跨膜螺旋。它主要由疏水氨基酸组成，因此能够稳定地整合进脂双层。相反，序列 A 含有许多极性氨基酸(S、T、N、Q)，序列

C含有许多带电荷的氨基酸(K、R、H、E、D)，它们在疏水的脂双层的内部在能量方面是不利的。

第12章

答案12-1 A. 用载体蛋白介导的转运能用一严格的模拟公式来描述：

(1) $T+S \rightleftharpoons TS \longrightarrow T+S^*$

式中，S是溶质，S^*是膜另一侧的溶质(也就是说，虽然它仍然是相同的分子，但它现在位于不同的环境中)，T是载体蛋白。

B. 这个公式很有用，因为它先描述了结合的一步，随之跟着传送的一步。这个公式的数学处理和酶的数学处理很相似(图3-24A)。因此载体蛋白的特性在于一个K_M值和一个V_{max}值，K_M描述载体蛋白对一个溶质的亲和性，V_{max}表示它们的最大转移速率。为了更准确，该公式应包括这反应流程中载体蛋白的构象变化：

(2a) $T+S \rightleftharpoons TS \rightleftharpoons T^*S^* \longrightarrow T^*+S^*$

(2b) $T \rightleftharpoons TP^*$

式中T^*是构象变化以后的载体蛋白，这种构象变化是将载体蛋白结合溶质的部位暴露于膜的另一侧。这个描述需要第二个公式(2b)，它允许载体蛋白回到原来的构象。

C. 以上公式不描述通道的行为，因为通过通道的溶质不是以底物结合在酶上的方式结合在通道上的。

答案12-2 如果因为Na^+-K^+泵被乌本苷或洋地黄部分抑制而不完全工作，则它产生的Na^+电化学梯度不及未处理的细胞的Na^+电化学梯度那么大，结果Ca^{2+}-Na^+对向运输蛋白功能工作效率减低，Ca^{2+}更缓慢地迁移出细胞。当下一个肌肉收缩周期开始时，在胞质溶胶内仍然留下高水平的Ca^{2+}。因此相同数目的Ca^{2+}进入细胞导致比未处理的细胞内Ca^{2+}浓度更加高，这种情况随即引起更强和更长时间的持续收缩。由于在所有的动物细胞内的Na^+-K^+泵均履行一些必不可少的功能，既要维持渗透平衡，又要产生用来驱动许多转运蛋白的Na^+梯度，因而这些药物在高浓度情况下是极其有害的。

答案12-3 A. 这些性质定义同向转运。

B. 不需要附加额外的性质。使两种溶质偶联的重要特征是如果两种溶质中只有一种被结合，则该蛋白质不能改变其构象。驱动溶质A转运的溶质B，在引发膜转运的一侧是过剩的，而且大部分时间占据着它的结合部位。这种状况下，载体蛋白不能改变其构象，一直要等到溶质A分子结合上去，使两种结合部位都被占据，载体蛋白才改变构象。这时暴露于膜另一侧的溶质B的结合部位几乎是空的，因为在膜的该侧溶液内只有很少的溶质B。虽然溶质A的结合部位现在更频繁地被占领，但这个载体只有在溶质A也被卸下后才能改变回到原来的构象。

C. 具有以下性质的一种跨膜蛋白同样能构建对向转运。跨膜蛋白具有两种结合部位，一种结合溶质A，一种结合溶质B。这跨膜蛋白能在下列两种状态之间变换构象：两种结合部位全部暴露在膜的一个侧面，或两种结合部位全部暴露在膜的另一个侧面。只有在一种结合部位被占据时，该蛋白质才能在两种构象状态间变换，但如果两种结合部位都被占据，则不能变换。

注意，这些规则向图12-17显示的内容提供另一个可供选择的模型。因而，有两种可能的方法把两种溶质的转运偶联起来。① 提供协同的溶质结合部位，并使这个泵能在两种状态之间像图12-17中表示的那样随机地变换。② 使两个溶质都独立结合，并且使两个状态之间的转换取决于所占用结合部位。由于偶联转运蛋白的结构尚未弄清，所以我们不知道这种泵使用的是这两种机制中的哪一种。

答案12-4 每个矩形峰对应于允许小电流通过的单个通道的开放。你注意到膜片中通道频繁开放和关闭的记录。每个通道维持开放的时间都很短，并略有差异，平均为10 ms。当开放时，这通道允许振幅单一的小电流(4 pA；1 pA$=10^{-12}$ A)通过。举个例子，如果电流翻倍则表明在同一膜片中有两个通道同时开放。

如果在玻璃吸管外面的溶液里去除或加入乙酰胆碱，你将只测定到基线电流。乙酰胆碱必须与乙酰胆碱受体分子的细胞外部分结合才能使通道开放，而如图12-23中显示的膜片，膜的胞质面暴露于微电极的溶液中。

答案12-5 K^+的平衡电位是-90 mV{$=62$ mV·$\log_{10}$[(5 mmol/L)/(140 mmol/L)]}，Na^+的平衡电位是$+72$ mV{$=62$ mV·$\log_{10}$[(145 mmol/L)/(10 mmol/L)]}。静息细胞的胞质中的K^+泄漏通道使得K^+趋向平衡，因此细胞的膜电位接近-90 mV。当Na^+通道打开时Na^+冲入，结果膜电位改变其极性，接近$+72$ mV的值。由于Na^+通道的关闭，K^+泄漏通道使得K^+不再处于平衡状态，以致K^+离开细胞，直至膜电位恢复到K^+的平衡值约-90 mV为止。

答案12-6 当一轴突的静息膜电位且落到阈值以下时，紧邻区域内的电压门控通道Na^+通道打开并允

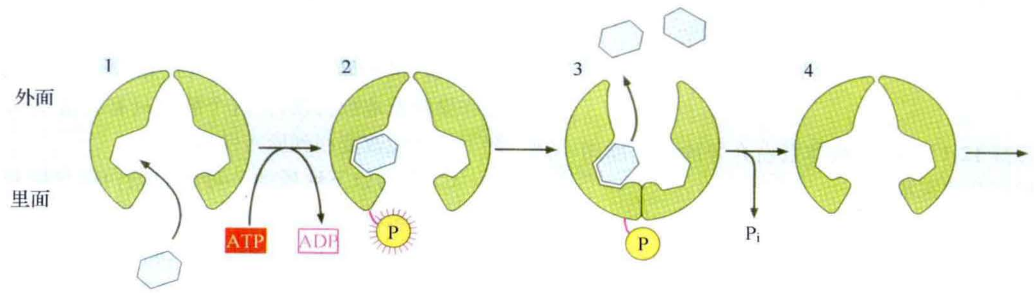


图 A12-8

许 Na^+ 流入。这使得该膜进一步去极化，引起较远的电压门控 Na^+ 通道也打开。这样产生一种去极化波沿着轴突迅速传播，成为动作电位。由于 Na^+ 通道打开后不久即失活，通过电压门控 K^+ 通道和 K^+ 泄漏通道的 K^+ 流能在动作电位过去后迅速恢复原来的静息膜电位。

答案 12-7 如果抗体减少了具有功能的乙酰胆碱受体数目，则从神经末梢释放的神经递质（乙酰胆碱）不能（或仅仅很弱地）刺激肌肉收缩。

答案 12-8 与图 12-11 显示的 Na^+-K^+ 泵相似，只有当载体蛋白在膜朝“里”的一面有溶质结合的时候（步骤1→2），ATP 可能被水解并给载体蛋白提供一个磷酸基。磷酸基的连接会触发即时的构象变化（2→3），从而捕获溶质并将溶质暴露于“外面”。只有当这溶质已解离时，该磷酸基脱离蛋白质，这时空载的非磷酸化的载体蛋白变回到原来的位置（步骤 3→4）。

答案 12-9 A. 错。质膜含有为许多带电荷分子提供选择通透性的蛋白质。相反，缺少蛋白质的纯净脂双层对所有带电荷分子是高度不通透的。

B. 错。通道蛋白质不结合通过它的溶质。通道蛋白质的选择性是靠内孔的大小和孔入口处带电荷区域吸引和排斥具有适当电荷的离子而实现的。

C. 错。载体蛋白比较缓慢。它们具有类似酶的性质，即它们结合溶质并在它们的功能循环期间需要进行构象的变化。这限制了转运的最大速率（大约 1000 个溶质分子/s），而通道蛋白能通过高达 1 000 000个溶质分子/s。

D. 对。一些光合细菌的细菌紫膜质利用可见光获得的能量迁移 H^+。

E. 对。大多数动物细胞在其质膜内含有 K^+ 泄漏通道，这些 K^+ 泄漏通道通常是开放的。但细胞内的 K^+ 的浓度仍然保持得比外面高，由于膜电位是负的，因此抑制了带正电的 K^+ 漏出。K^+ 也不断通过 Na^+-K^+ 泵被泵入细胞。

F. 错。同向转运使在膜的同一面结合两种不同的溶质，将其转向，不能把它转变成对向运输。对向运输也结合不同的溶质，但这些溶质在膜的相对的两侧。

G. 错。动作电位的峰值对应于膜电位从负值向正值的瞬间改变。Na^+ 的内流引起膜电位首先向零值移动，然后变换极性，使细胞的里边充满正电荷。最终，通过电压门控 K^+ 通道和 K^+ 泄漏通道的 K^+ 外流恢复静息电位。

答案 12-10 按照脂双分子层通透性从强到弱的顺序排列：N_2（非极性小分子）＞乙醇（弱极性小分子）＞水（非极性小分子）＞葡萄糖（极性大分子）＞Ca^{2+}（带电荷的小分子）＞RNA（带电荷的大分子）。

答案 12-11 A. 两者都偶联两种不同溶质穿过膜的运动。同向转运以同一方向转运两种溶质，而对向转运使这两种溶质以相反的方向转运。

B. 两种转运均由膜转运蛋白介导。一种溶质的被动转运是沿其浓度或电化学梯度方向而下，而主动转运是逆此梯度而上，因此需要能源。主动转运由载体蛋白质而不是由通道蛋白质介导，而被动转运能被两种蛋白质中的任何一种介导。

C. 两个术语都描述了一个离子从膜的一面向另一面转运中涉及的能量变化。膜电位涉及电能变化，电化学梯度由与高浓度区域和低浓度区域之间的移动相关的电能变化和化学能变化组成。膜电位的确定和离子的选择无关，而电化学梯度依赖于特定离子溶质的浓度梯度，因此是一种溶质特异的参数。

D. 泵是利用能量逆着电化学梯度而上转运溶质的一种特化的载体蛋白质。

E. 轴突和电话线都通过点活动传递信号。电话线由铜组成，而轴突不是。信号沿着轴突通过而不减弱其强度，因为它是自放大的，而信号在电线中传递时减弱。

F. 溶质和离子都影响细胞的渗透压。离子是带有电荷的一种溶质。

答案 12-12 一座桥允许车辆以恒定的车流入河。入口可以设计成不准超大型的货车通过，入口处并能用门间歇性的关闭通行。照此类推，通道使离子在门控的束流中流动穿过膜，施以对大小和电荷的限制，相反，渡船在一侧河岸上装载车辆然后开到对岸，在河的另一侧卸下，这个过程比较缓慢。在装载过程中，能从等待行列中选择特殊的车辆，因为它们特别适合这个载车甲板。以此类推，载体蛋白质在膜的一侧结合溶质，然后构象变化，在膜的另一侧释放溶质。专一性的结合导致对被转运分子的选择性。就像在偶合转运的情况一样，有时你不得不等到载足车辆才开船。

答案 12-13 乙酰胆碱转运到小泡内依赖于小泡膜内的 H^+-乙酰胆碱对向运输。驱动摄取乙酰胆碱的 H^+ 梯度则由小泡膜内 ATP 驱动的 H^+ 泵把 H^+ 泵入小泡而产生(因此这反应依赖于 ATP)。小泡周围溶液的 pH 的上升增加 H^+ 梯度：在 pH 升高的情况下，小泡外面溶液内 H^+ 较少，而小泡内的 H^+ 数保持不变。这就解释了观察到的摄入速率升高的原因。

答案 12-14 跨膜电压梯度大约 150 000 V/cm。这一极强的电场接近极限，在到达极限时，绝缘物质，像脂双分子层这样的物质，被击穿并不再成为绝缘体。这么强的电场相当于大量能量可被储存于跨膜的电压梯度中，相当于蛋白质在膜内能经历的极端电作用力。150 000 V 的电压可在跨越 1 cm 宽裂隙的电弧中立即放电(也就是说，在此条件下，空气将不足以成为绝缘体)。

答案 12-15 A. 无。你需要 ATP 驱动能量。

B. ATP 被水解，把 Na^+ 泵入小泡，产生跨膜 Na^+ 梯度。同时，把 K^+ 泵出小泡，产生相反极性的 K^+ 浓度梯度。当所有的 K^+ 被泵出小泡或 ATP 用完时，该泵将停止工作。

C. Na^+-K^+ 泵将如图 12-11 中所示通过步骤 1、2 和 3。然而，由于所有的反应步骤必须严格地依序进行，所以在缺 K^+ 的情况下，不能发生去磷酸化反应和构象变化。因此，Na^+-K^+ 泵将一直处于磷酸化状态，无限地等待 K^+。被转运的 Na^+ 数目将会减少，因为每个泵分子只能够作用一次。类似的实验，不考虑个别离子并分析其结果，被用来检测 Na^+-K^+ 泵工作各步骤的先后次序。

D. 如方案 B 中所述，ATP 将被水解，Na^+ 和 K^+ 将被泵抽送穿越膜。然而，取反方向位于膜内的泵分子将完全失效(人们可能错误地假设它们将以相反的方向泵离子，但实际上它们不会这么做)，因为 ATP 将无法接近这些分子上适当的磷酸化部位。这个位点通常暴露于胞质溶胶。ATP 荷电较高，没有特殊的载体蛋白的帮助是不可能穿过膜的。

E. 如方案 B 中所述，ATP 将被水解，Na^+ 和 K^+ 将被泵抽送穿越膜。然而，通过 K^+ 泄漏通道 K^+ 立刻流回到小泡内。K^+ 顺着 Na^+-K^+ 泵作用形成的 K^+ 浓度梯度向下移动。每通过泄漏通道迁移一个 K^+ 到小泡内，就有一个正电荷穿过膜，如此建立起了小泡里面为正的膜电位。最终，当膜电位平衡浓度梯度时，K^+ 将停止通过泄漏通道的流动。这里描述的方案有点过于简化：实际上哺乳动物细胞内 Na^+-K^+ 泵每泵入细胞 2 个 K^+ 就转运 3 个 Na^+ 出细胞，由此驱动一电流通过膜，为静息膜电位作出一点额外的小小贡献(因此静息电位大致仅对应于经 K^+ 泄漏通道的 K^+ 的平衡状态)。

答案 12-16 离子通道可以使配体门控、电压门控或机械门控。

答案 12-17 细胞具有 10^{-12} L($=10^{-15}$ m^3)体积，这样该细胞含有 6×10^4 Ca^{2+} ($=6\times10^{23}$ 分子/mol $\times$ 100×10^{-9} mol/L $\times$ 10^{-12} L)。因此，为了使细胞内 Ca^{2+} 浓度提高 50 倍，必须再有 2 940 000 个 Ca^{2+} 进入细胞(注意，细胞内 5 μmol/L 浓度时就有 3×10^6 个离子。其中 60 000 个在通道打开之前已经存在了)。由于 1000 个通道中的每一个通道每秒钟允许 10^6 个离子通过，因此每个通道只需处于开放状态 3 ms。

答案 12-18 动物细胞驱动大多数转运过程跨越具有 Na^+ 电化学梯度的质膜，需要 ATP 作为 Na^+-K^+ 泵的燃料以维持 Na^+ 梯度。

答案 12-19 A. 如果 H^+ 被泵送穿过膜进入内体，结果将产生 H^+ 的电化学梯度，这个 H^+ 的电化学梯度由电位和浓度梯度两者组成，导致小泡里面是正的。两者都需要储存于梯度中的能量，且必须提供此能量以求生成它。因此，电化学梯度限制更多 H^+ 的转运。然而，如果膜也含有 Cl^- 通道，带有负电荷的 Cl^- 将流入内体并减小电位。因此，能耗上较为划算的是泵较多的 H^+ 穿过膜，使内体里面变得更为酸性。

B. 对的。如(A)中解释，当缺乏它们时，酸化作用仍旧存在。

答案 12-20 A. 见图 A 12-20(A)。

B. 化合物 A 的转运速率与其浓度成正比，表明化合物 A 能靠自己扩散通过膜。化合物 A 大概是乙醇，因为它是一种小的和相对非极性的分子，这种分子容易扩散体通过脂双层。相反，化合物 B 在高浓度时其转运速率达到饱和，表明化合物 B 是通过转运蛋白转运穿过膜。转运速率不能超过该转运蛋白所能发挥的最大速率。化合物似乎是乙酸盐，因为它是带电荷的分子，没有膜转运蛋白的帮助不能穿过膜。

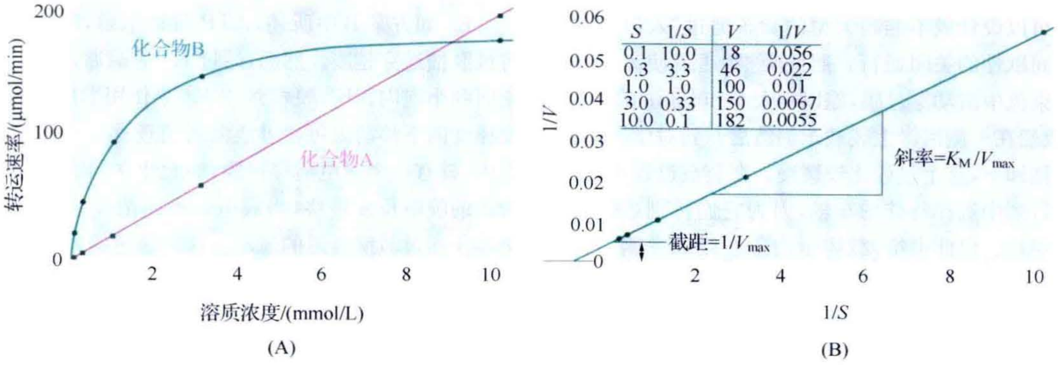


图 A12-20

C. 对于乙醇我们测定它的浓度和转运速率之间的线性关系。因此，在 0.5 mmol/L 时，转运速率是 10 μmol/min；在 100 mmol/L 时，转运速率是 2 μmol/min。对于载体蛋白介导的乙酸盐的转运，用 Michaelis-Menten 公式能叙述浓度 S 和转运速率之间的关系。Michaelis-Menten 公式描述简单的酶反应：

$$转运速率 = V_{max} \times S/(K_M + S) \quad (1)$$

回想一下第 3 章(见问题 3-20)所述对 V_{max} 和 K_M 的测定，对 Michaelis-Menten 公式中所用的技巧做了一些修改，所以可以把数据画成直线。经简单的变换得：

$$1/V = (K_M/V_{max})(1/S) + 1/V_{max} \quad (2)$$

(形成 $y = ax + b$ 的公式)

根据所给的数据计算 $1/V$ 和 $1/S$，然后如图 A12-20(B)(右上)作一个新坐标图画成直线。从这直线与 Y 轴截距($1/V_{max}$)和从它的斜率(K_M/V_{max})测出 K_M(1.0 mmol/L)和 V_{max}(200 μmol/min)。知道了 K_M 和 V_{max} 值，你就可以利用公式(1)计算 0.5 mmol/L 和 100 mmol/L 乙酸盐的转运速率，结果分别是 67 μmol/min 和 198 μmol/min。

答案 12-21 膜电位和细胞外高 Na^+ 浓度产生强大的电化学驱动力以及 Na^+ 的大量储备，因此当乙酰胆碱受体打开的时候大部分 Na^+ 向细胞内流动。Ca^{2+} 也会流入细胞，但是这种流动由于其本身较低的胞外浓度而很大程度上受到限制(大量由于肌肉兴奋而进入胞质的是从细胞内储存释放出来的，我们将在第 17 章进行讨论)。由于 K^+ 在细胞内浓度较高，又具有相反的膜电位，其本身已经很接近于平衡电位，因此阳离子通道开放不会引起过多的 K^+ 流动。

答案 12-22 神经递质门控离子通道的差异性对于医药工业来说是件好事，有利于研制特异性针对各种通道的新药。这些通道的各种亚型只限于在很少一部分神经元表达，因此从理论上说，这种狭窄范围的表达将有利于研究出一些新药来针对某些神经元上特异表达的受体亚型，从而使得药物具有更加特异的靶向性。

第 13 章

答案 13-1 为了维持糖酵解进行下去，细胞需要从 NADH 再生 NAD^+。没有发酵过程就没有有效的途径去完成此项工作。在没有再生 NAD^+ 的条件下，糖酵解的第 6 步(甘油醛 3-磷酸氧化为 1,3-二磷酸甘油酸，图版 13-1)不能进行且会累积产物甘油醛 3-磷酸。既不能制造丙酮酸又不能制造乙醇的细胞会发生前面这种同样的事件：它们都不能再生 NAD^+，所以会在同一步阻断糖酵解。

答案 13-2 以砷酸基代替磷酸基进入糖酵解中的第 6 步会形成 1-砷-3-磷酸甘油酸(图 A13-2)。因为它在水中易水解，高能键在含有它的分子扩散抵达下一个酶前已被破坏了。水解产物 3-磷酸甘油酸与第 7 步中通常由磷酸甘油酸激酶作用而形成的产物相同。但是因为水解以非酶催化形式进行，不能捕获高能键断裂所释放的能量而产生 ATP。因此在图 13-6 中对应于箭头向下的反应仍会发生，但是提供与 ATP 合成作用相耦合的那个节点消失了。以相同的机理砷解离了许多磷酸转移反应。因而浪费代谢能量，这就解释了砷的毒性为什么会如此强。

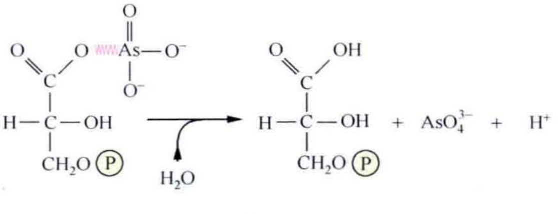


图 A13-2

答案 13-3 脂肪酸的氧化作用将它的烃链裂解为一些二碳单元(乙酰基)，它们可连接到 CoA 上。反之，生物合成是通过将一些乙酰基连接在一起而构成脂肪酸。因此大多数脂肪酸的碳原子个数是偶数。

答案 13-4 由于柠檬酸循环的功能是收集氧化作用期间释放的能量，因此将整个反应分解为尽可能多的步骤是有利的(图 13-1)。利用一个二碳化合物所能得到的化合物将会有限得多，并且不可能产生这么多中间物。

答案 13-5 这是正确的。氧作为 CO_2 的一部分返回大气中。然而，从细胞中释放的 CO_2 并不含有那些特殊的氧原子，这些原子作为氧化磷酸化作用反应的一部分被消耗并转入水中。可以用如下方法直接说明这一点：将活细胞培养在一种大气中，其中含有同位素 ^{18}O 的分子氧，而不是本来就富含着的同位素 ^{16}O。在这样一个实验中发现细胞释放的全部 CO_2 只含有 ^{16}O。因此，在被释放的 CO_2 分子中的氧原子并不直接来自于大气，而来自于那些首先由细胞制造然后作为燃料被氧化的有机分子(图版 13-2)。

答案 13-6 此循环继续是因为导向柠檬酸循环(而不是离开它)的反应不断补充中间物。这种重要的反应之一是由丙酮酸羧化酶催化的丙酮酸至草酰乙酸的转化：

$$\text{丙酮酸} + CO_2 + ATP + H_2O \longrightarrow \text{草酰乙酸} + ADP + Pi + 2H^+$$

这是许多例子中的一个，说明代谢途径是如何被精巧地平衡着并一起工作，以求细胞所需要的全部代谢物都保持合适的浓度(图 A13-6)。

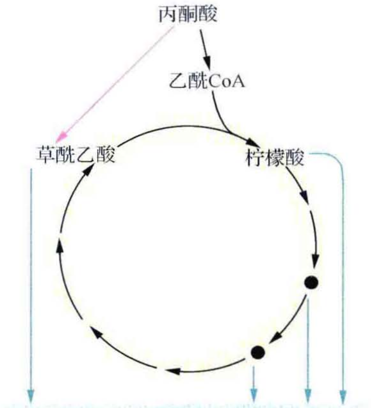


图 A13-6

答案 13-7 糖分子中的那些碳原子已被部分氧化，与脂肪酸酰基链开头的那几个碳原子不同，所以，在丙酮酸转变为乙酰 CoA 期间葡萄糖以 CO_2 形式失去 2 个碳原子，糖分子的 6 个碳原子中只有 4 个被回收而能进入柠檬酸循环，在那里捕获大部分能量。对比之下，一个脂肪酸的全部碳原子被转入乙酰 CoA。

答案 13-8 A. 错误。若是这样，那么这个反应对细胞是无用的。化学能不会以有用的形式(如 ATP)被收集起来以供代谢过程利用(虽然细胞会感到温暖!)。

B. 错误。没有 100%有效的能量转换过程。回忆一下，宇宙中的熵总在增加，而对于大多数反应来说这是经放热而完成的。

C. 正确。与 CO_2 中的碳原子比较，葡萄糖中的碳原子处于还原状态，而 CO_2 中的碳原子处于完全氧化的状态。

D. 错误。这个反应确实产生一些水，但在生物圈中水是如此的丰富以至这一些水只是“沧海一粟”。

E. 正确。若它只以一步进行，则全部能量会立刻释放从而不可能有效地收集它去推动别的反应，如 ATP 的合成。

F. 错误。分子氧(O_2)只被用在这个反应的最后一步。

G. 正确。植物在光合作用中通过收集太阳光把 CO_2 转化为糖。在此过程中产生并由植物细胞释放 O_2。

H. 正确。厌氧生长的细胞通过糖酵解把糖氧化成丙酮酸。动物细胞把丙酮酸转化为乳酸，且不产生 CO_2；然而，酵母细胞转化丙酮酸为乙醇和 CO_2。就是这个在发酵期间由酵母细胞释放的 CO_2 气体使面团发起来，还给啤酒和香槟酒充 CO_2 气体。

答案 13-9 达尔文呼出碳原子，因此它必定是一个 CO_2 分子中的那个碳原子。在大气中扩散一段时间后，这个 CO_2 分子必进入一个植物细胞，它在那里被光合作用固定并转化为一个糖分子的一部分。已经确信这些前期步骤必以这种方式发生，那么从那里出发的碳原子有许多不同途径可被获取。例如，糖可被植物细胞分解为丙酮酸或乙酰 CoA，然后乙酰 CoA 进入生物合成反应，生成一个氨基酸。这个氨基酸可能掺入一个植物蛋白中，或许是一个酶或是一个组成细胞壁的蛋白。你可能在吃色拉时吃到该植物美味的叶子，并在肠中消化这个蛋白质，并产生氨基酸。经过你的血液循环后，这个氨基酸可能被一个正在发育的红细胞摄取而用于制造它自己的蛋白质，如问题中提到的血红蛋白。如果我们愿意，当然我们可以制订出我们的更复杂的食物链方案。例如，这个植物可能先被一个动物吃了，然后在午餐时被你消耗掉。另外，由于达尔文去世于 100 多年前，这个碳原子可能以这样一

条路线已经旅行了许多次。然而在每一轮中，它都会再次以完全氧化的 CO_2 气体开始，经光合作用被还原而进入生物界。

答案 13-10 有氧时酵母细胞会生长得好得多。在无氧条件下它们不能进行氧化磷酸化作用，因此只能由糖酵解生产其全部 ATP，效率较低。鉴于糖酵解中 1 个葡萄糖分子净得 2 个 ATP 分子，额外加上柠檬酸循环和氧化磷酸化作用将提高能量产量，达到约 30 个 ATP 分子。

答案 13-11 在磷酸肌酸中储存在磷酸键中的自由能的量大于 ATP 中储存在酐键中的自由能的量。磷酸肌酸的水解能与 ATP 的生产直接耦合。

$$\text{磷酸肌酸} + \text{ADP} \longrightarrow \text{肌酸} + \text{ATP}$$

这个反应的 ΔG° 为 -3 kcal/mol，表示它如式中所示迅速向右进行。

答案 13-12 糖酵解的极度保守性证明现代的全部细胞是由一个单独的基本细胞衍生而来的，如第 1 章中所讨论。因此这些精巧的糖酵解反应可能只进化过一次，然后它们可能随细胞的进化而被遗传下去。稍后进化出来的氧化磷酸化作用使后续反应能捕获的能量是单靠糖酵解所能捕获的能量的 15 倍。这一惊人的效率接近于理论极限并因此实际上消除了进一步改进的机会。因此，其他的途径并不会获得能被进化选择的明显的生长优势。

答案 13-13 犹如在正文中所讨论过的，由每一个葡萄糖分子产生的 30 个 ATP 分子按反应 $C_6H_{12}O_6$（葡萄糖）$+ 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O +$ 能量而被氧化。因此，每产生 5 个 ATP 分子消耗一个 O_2 分子。因此细胞消耗 2×10^8 个 O_2 分子/min，它对应于每分钟消耗 3.3×10^{-16} mol（$=2\times10^8/6\times10^{23}$）或 7.4×10^{-15} L（$3.3\times10^{-16}\times22.4$）。细胞的体积为 10^{-15} m^3［$=(10^{-5})^3$］，为 10^{-12} L。因此这个细胞每分钟消耗氧气的体积约为细胞体积的 0.7%（$=100\times7\times10^{-15}/10^{-12}$），或 2.25 h 消耗如细胞自身体积那么多的氧气。

答案 13-14 这些反应每一个有负的 ΔG 值，因此在能量方面是有利的（见能级图，图 A13-14）。

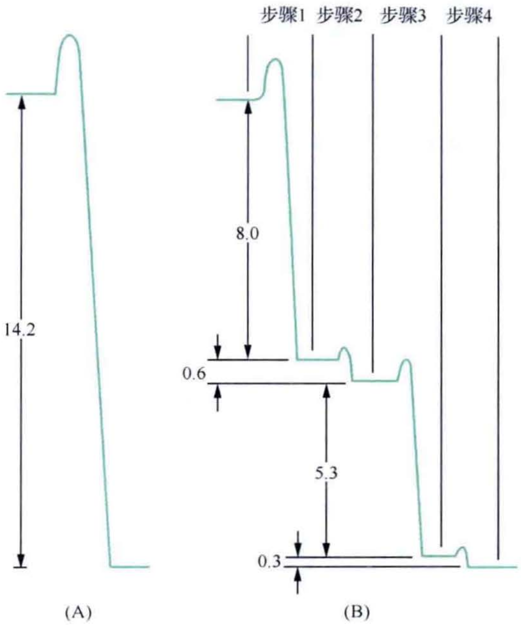


图 A13-14

答案 13-15 A. 丙酮酸被转变为乙酰 CoA，而标记的 ^{14}C 原子以 $^{14}CO_2$ 气体形式被释放（图 13-8B）。

B. 通过循环中每一个反应追踪 ^{14}C 标记原子，见图版 13-2，你发现加入的 ^{14}C 标记会被定量地回收在草酰乙酸中。然而这一分析还揭示它不在酮基中，而在草酰乙酸的亚甲基中（图 A13-15）。

答案 13-16 在分子氧存在的条件下，氧化磷酸化作用将细胞 NADH 的大部分转换成 NAD^+。由于发酵需要 NADH，因此它由于氧气的存在而被严重抑制。

放射性的草酰乙酸加入到提取物中　　一轮柠檬酸循环后分离出来的草酰乙酸

图 A13-15

第 14 章

答案 14-1 通过让膜成为对质子通透，DNP（二硝基酚）瓦解（或在很小的浓度时减少）跨线粒体内膜的质子梯度。细胞不断氧化食物分子并将高能电子充入电子传递链，但被泵送穿过膜的氢离子又流回线粒体内，为无效循环。它们的能量不能被用于驱动 ATP 合成，因此以热的形式被释放掉。服用小剂量 DNP 的患者能减轻体重就是因为它们的脂肪储备能较快地被用于供应电子传递链，因为这整个过程只在“浪费”能量。

一种棕色脂肪细胞所构成的特化组织利用相似的产热机制。人类新生儿和冬眠动物富含这种细胞。这种细胞装备着线粒体，这些线粒体会无效益地跨膜回漏它们的部分 H^+ 梯度，其唯一目的是给身体加温。由于这些细胞集聚着线粒体，其中含有高浓度的色素蛋白（如细胞色素）而使细胞呈棕色。

答案 14-2 线粒体内膜是氧化磷酸化的部位，细胞的大多数 ATP 由此产生。嵴是线粒体内膜向内折叠的部分。嵴密度高的线粒体具有较大的内膜向内折叠的部分，因而具有较高的氧化磷酸化的能力。心肌在不断收缩的期间消耗大量的能量，而皮肤细胞则只需较少的能量。随着嵴密度的增大，心肌细胞产生 ATP 的能力也增大。这就是细胞按需调节其组分丰度的一个典型例子。

答案 14-3 A. DNP 彻底瓦解电化学质子梯度。用泵抽送到膜一侧的氢离子能自由地返回，因而跨膜没有能量可储备。

B. 电化学梯度由两种成分构成：一种是浓度梯度，一种是电位。如果用尼日利亚菌素(nigericin)使膜对 K^+ 通透，则钾离子会被内膜电位(内负，外正)驱动而进入基质。带正电荷的钾离子的注入量将会消除膜上的电位。反之，氢离子梯度(pH 的差异)的浓度组分不受尼日利亚菌素的影响。因此仅损失部分驱动力，这种驱动力使之在能量方面对 H^+ 流回基质有利。

答案 14-4 A. 水涡轮机反向运转时是一台电动水泵，类似于当 ATP 合成酶利用水解 ATP 的能量逆着电化学梯度跨线粒体内膜泵送质子时的情况。

B. 从质子梯度取得的能量恰好等于制造 ATP 所要求的自由能变化时，ATP 合成酶理应失速。在此平衡点上，既没有净的 ATP 合成，也没有净的 ATP 消耗。

C. 细胞在消耗 ATP 的时候，基质中的 ATP/ADP 的比率会低于上面描述过的平衡点，ATP 合成酶利用储存在质子梯度中的能量合成 ATP 以恢复原来的 ATP/ADP 的比率。反之，当电化学质子梯度降到低于平衡点的梯度值时，ATP 合成酶就会利用基质中的 ATP 恢复这个梯度。

答案 14-5 当一个电子对通过 3 个呼吸复合物从 NADH 传递给 O_2 时，引起 10 个 H^+ 泵送通过线粒体内膜。每制造一个 ATP 需要 4 个 H^+：3 个用于从 ADP 合成 ATP，1 个用于将 ATP 输出到胞质溶胶。因此，每个 NADH 分子可以合成 2.5 个 ATP 分子。

答案 14-6 在这个过程中，人们可以描述蛋白质的 4 个基本作用。首先，由一个蛋白质的氨基酸侧链提供的化学环境建立了每个 Fe 的氧化还原电位，那些电子用特定的顺序从一个组分传递到下一个组分，一小步一小步地放出能量，也一步步地使键变得更加牢固；第二，这些蛋白质对铁离子进行定位，使得电子在它们之间进行有效移动；第三，这些蛋白质阻止电子跳过一个中间步骤，因此，正如我们所了解的其他的酶那样(在第 4 章中讨论过)，它们引导电子沿着确定的途径移动；第四，这些蛋白质把电子沿能量阶梯而下的移动与泵送质子穿过膜耦合起来，从而利用这些被释放的能量并将其储存在质子梯度中，将其用于制造 ATP。

答案 14-7 在两个步骤中用同一个载体是不会富有成效的。比如，如果泛醌能够将电子直接传递给细胞色素氧化酶，从 NADH 脱氢酶收集电子时就会常常跳过细胞色素 b-c_1 复合物。鉴于泛醌和细胞色素氧化还原电位之间存在很大差别，大量能量就会以热能的形式释放出来，因而造成浪费。电子在 NADH 脱氢酶和细胞色素 c 之间直接传递同样会绕过细胞色素 b-c_1 复合物。

答案 14-8 质子被泵送穿过线粒体内膜并进入膜间隙，这对胞质溶胶这个巨大的 H^+ 池起平衡作用。线粒体基质和胞质溶胶两者都支撑许多需要接近中性 pH 的代谢反应。因此，线粒体基质和胞质溶胶之间可以达到的 H^+ 浓度差(ΔpH)是很小的(少于一个 pH 单位)。储备在线粒体电化学质子梯度中的大量能量是由于膜电位造成的(图 14-10)。

反之，在叶绿体中 H^+ 被泵抽送至较小的专用区室，使 H^+ 可有更大的浓度差(可以大 1000 倍，即 3 个 pH 单位)，储存在类囊体 H^+ 梯度中的许多能量是由于类囊体腔和基质间的 H^+ 浓度差所造成的。

答案 14-9 NADH 和 NADPH 的不同体现在一个磷酸基团上。那个磷酸基团使 NADPH 的结构与 NADH 相比有些许不同，使之能被不同的酶识别，因而能将其电子提交给不同的目的分子。如此分工卓有成效，这是因为 NADPH 倾向于参与生物合成反应，用高能电子生产富含能量的生物分子。另外，NADH 参与氧化富含能量的食物分子来产生 ATP 的反应。在细胞内，NAD^+ 和 NADH 的比例非常高，而 $NADP^+$ 和 NADHP 保持很低。这就提供了大量的作为氧化剂的 NAD^+ 和大量的作为还原剂的 $NADP^+$，而在分解代谢和合成代谢中需要它们各自独特的功能。

答案 14-10 A. 光合作用产生糖，大多数重要的来自光合细胞的蔗糖通过树汁被运往根细胞。在那里，糖被根细胞细胞质中的糖酵解作用和根细胞线粒体中的氧化磷酸化作用氧化而产生 ATP，以及被用作许多其他代谢物的结构单元。

B. 即使在光照时间里，含有叶绿体的细胞仍然需要线粒体来给细胞提供由氧化磷酸化作用产生的 ATP。叶绿体光合作用产生的甘油醛-3-磷酸进入胞质溶胶，最终作为线粒体中的驱动 ATP 产生的能量来源。

答案 14-11 所有的表述都是正确的。

A. 这是一个必要条件。如果不是这样，电子就不能从水分子中转移出来，并且水分子的裂解反应（$H_2O \longrightarrow 2H^+ + \frac{1}{2}O_2 + 2e^-$）也不能进行。

B. 这种转移能捕捉光子能量并能够被化学转换所利用。

C. 值得讨论的是，在光合作用进化过程中必须克服的最重要的障碍之一是：部分还原的氧分子如超氧化物自由基 O_2^- 是危险的反应物，将攻击和破坏几乎所有的生物活性分子。因此，这些中间产物必须与酶活性部位上的金属保持紧密结合，直至 4 个电子全部从两个水分子中转移出来。这需要同一个反应中心连续捕获 4 个光子。

答案 14-12 A. 对。NAD^+ 和醌是那些没有铁离子却能参与电子传递的化合物的例证。

B. 错。电位是由于质子（H^+）从基质被泵送穿膜并进入膜间隙所造成的。在线粒体内膜中，电子仍与电子载体结合。

C. 对。加入该驱动力的两种成分使它在能量方面有利于 H^+ 流回到基质。

D. 对。两者在质膜平面上迅速地移动。

E. 错。不仅没有叶绿体的植物细胞需要线粒体来制造 ATP，诸如根细胞，而且在所有的植物细胞中线粒体制造大部分的胞质溶胶 ATP。

F. 对。叶绿素的生理功能要求它吸收光；血红素则碰巧是一种有色化合物而使血液呈红色。

G. 错。叶绿素吸光并以带能电子的形式传递能量，而血红素中的铁只是一种简单的电子载体。

H. 错。树的大部分干重主要来自光合作用时固定的来自 CO_2 的碳。

答案 14-13 这个过程消耗 3 个质子。合成 ATP 的精确 ΔG 值依赖于 ATP、ADP 和 Pi 的浓度（见第 3 章中所述）。ATP 与 ADP 的浓度比值越大，合成额外 ATP 所消耗的能量也就越多。因此，当细胞已消耗大量的能量从而减少 ATP/ADP 的正常比例时，11 kcal/mol 这一较低的值就被采用。

答案 14-14 如果没有可利用的 O_2，线粒体电子传递链的所有组分将会以其还原的形式积累起来。这种情况是因为来源于 NADH 的电子进入该传递链却又不能传递给 O_2。因此，电子传递链停止运转，它的所有组分均处在还原状态。如果突然再加入 O_2，则细胞色素氧化酶中的电子载体会在 NADH 脱氢酶中的电子载体之前被氧化。这是真实的，因为在加入 O_2 之后，细胞色素氧化酶会直接向 O_2 提供电子，因而被氧化。一种增强氧化作用的波动随后从细胞色素氧化酶通过电子传递链的组分随时间而反向传播，故而每一组分重新获得机会将它的电子传递给下游组分。

答案 14-15 当氧化醌还原时，它从水中吸收两个电子和两个质子（图 14-19）。在氧化时，这些质子被释放。如果膜的一侧发生氧化而另一侧发生还原，则每个电子传递时将有一个质子被泵送穿膜。因此，醌所进行的电子传递直接对产生 H^+ 梯度作出贡献。

答案 14-16 光合细菌和植物细胞利用从反应 $2H_2O \longrightarrow 4e^- + 4H^+ + O_2$ 中获得的电子而将 $NADP^+$ 还原成 NADPH，然后用于产生有用的代谢物。如果这些电子除了用来产生 O_2 外，还用来产生 H_2，这些细胞将会失去它们在进行这个反应中所得到的任何优势，因为这些电子不能参与有用的新陈代谢反应。

答案 14-17 A. 溶液中的这种转换在类囊体膜两侧建立起一个 pH 梯度。沿电化学势能而下的 H^+ 流驱动 ATP 合酶将 ADP 转化为 ATP。

B. 不需要光，因为这种 H^+ 梯度是人工建立的，并不需要光驱动的电子传递链。

C. 什么都没有。这种 H^+ 梯度可能处于错误的方向；ATP 酶将不工作。

D. 这个实验展示仅靠 H^+ 梯度就足以驱动 ATP 合成，为化学渗透模型提供了早期的支持证据。

答案 14-18 A. 当将这些囊泡置于光照之下时，被细菌紫膜质抽送进入囊泡的 H^+（来自 H_2O）通过 ATP 合成酶反向流出，光照使 ATP 在囊泡周围的溶液中合成。

B. 如果这些囊泡泄漏，就没有形成氢离子梯度，ATP 酶也就不能工作。

C. 利用取自亲缘关系极为疏远的生物的组分会是一种十分有力的实验工具。因为这两种蛋白质的来源差异极大，它们直接形成功能上的相互作用是不太可能的。这个实验因而非常有力地提示电子传递和 ATP 合成是两个独立的事件。所以，这个研究方法是有效的。

答案 14-19 $FADH_2$ 的氧化还原电位太低，因而不能把电子传递到 NADH 脱氢酶复合物，但却足以将电子传递到泛醌（图 14-20）。所以，来自 $FADH_2$ 的电子只有在这一步（图 A14-19）才能进入电子传递链。由于 NADH 脱氢酶复合物被避开，越少的 H^+ 被抽送穿过膜，生成的 ATP 也越少。这个例子显示电子传递链的多功能性。利用周围环境中各种不同的电子来源供应电子传递，人们设想这种能力曾经是生命早期进化中的一种基本特性。

答案 14-20 如果这些细菌以一种与其他细菌类

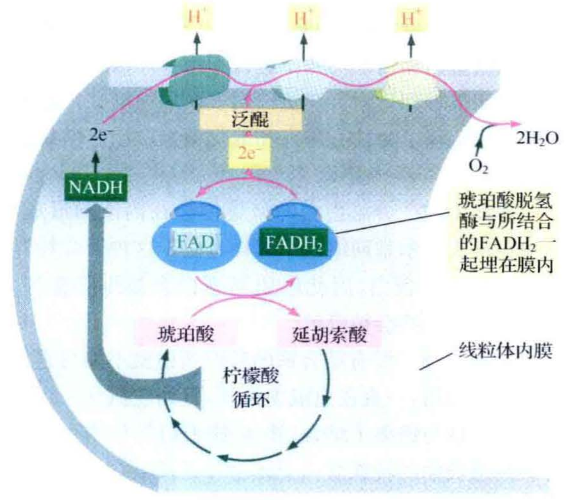


图 A14-19

似的方式运用质子梯度来产生它们的 ATP(即内部质子比外部少),它们需要将其胞质的 pH 提高到甚至比它们周围的环境(pH 10)还要高。细胞的胞质 pH 高于 10 时是不能存活的。因此,在电子传递和 ATP 合成酶之间的化学渗透偶联中,这些细菌必须利用除 H^+ 以外的离子梯度,如 Na^+ 梯度。

答案 14-21 A、B 两句陈述都对,而 C 是错的,因为即使与预期的单纯逆反应的净效果相同,每个循环中所进行的化学反应也是完全不同的。

答案 14-22 这个实验可能提示了 ATP 合成酶功能的两步式模型。根据这个模型,通过合成酶基部的质子流驱动头部的旋转,进而依次引起 ATP 的合成。在这个实验中,作者成功地将这两个步骤解偶联。如果机械地转动头部就足以在无任何外加质子梯度的情况下生产 ATP,那么这种 ATP 合成酶就像是一种蛋白质机器,其功能确实像是一个"分子涡轮"。的确,这会是一个很激动人心的实验,因为它将直接说明机械运动和酶活性之间的关系。毫无疑问,该文章一定能够发表并可能成为一篇"经典之作"。

答案 14-23 只有在条件(E)下,随着细胞色素 *c* 的还原可以观察到电子的转移。在这种混合物中,部分电子传递链得以重建,以致电子能够在能量有利的方向上从还原的泛醌流向细胞色素 $b\text{-}c_1$ 复合物,再到细胞色素 *c*。尽管这种传递在能量方面有利,但在(A)中由于缺少细胞色素 $b\text{-}c_1$ 复合物来催化该反应,因而不能自发地发生。在其他实验中,不管有无细胞色素 $b\text{-}c_1$ 复合物存在,都没有电子流的出现:在实验(B)和(F)中,泛醌和细胞色素 *c* 都被氧化;在实验(C)和(G)中,它们都被还原;在实验(D)和(H)中,电子流在能量上是不利的,因为还原的细胞色素 *c* 的自由能要比氧化的泛醌低。

第 15 章

答案 15-1 尽管核被膜是一个连续的膜,它有一些特化的区域,其中含有特定的蛋白质并具有特定的外观。特化区域之一是核内膜,膜蛋白的确可以在核孔周围的连接处向核膜内外扩散。然而,那些在内膜有特定功能的蛋白质通常通过与其他组分如染色体和核纤层(核内膜下的蛋白质絮状网,它帮助维持核被膜的完整性)锚着固定在那里。

答案 15-2 真核基因的表达比原核基因的表达复杂得多。特别是,原核细胞没有中断编码基因序列的内含子,所以 mRNA 在转录之后能被迅速翻译,不需要进一步的处理过程(在第 7 章有讨论)。事实上,在原核细胞中,核糖体在转录完成之前就开始翻译大部分 mRNA。在真核细胞中这将导致灾难性的后果,因为大部分 mRNA 在翻译之前必须经过剪切。核被膜在时间和空间上分隔了转录和翻译的过程:原始 RNA 被留在核内,直到它被加工形成合适的 mRNA,只有这时它才被允许离开核,核糖体才可以翻译它。

答案 15-3 mRNA 分子附着在内质网膜上,由核糖体进行翻译。核糖体总体上看不是静态的,mRNA 连续不断地在核糖体内移动。已经完成翻译的核糖体从 mRNA 的 3′端和内质网膜上分离,但 mRNA 本身仍然结合在其他从胞质溶胶库中新招募的核糖体上,这些核糖体附着在 mRNA 的 5′端并仍然在翻译。一般有 10～20 个核糖体附着在每个膜结合的 mRNA 分子上,取决于 mRNA 的长度。

答案 15-4 A. 此内部信号序列是作为一个膜锚定物,如图 15-17 所示。但是因为没有终止转移序列,蛋白质的 C 端继续被转移进入内质网腔。结果产生的蛋白质在胞质溶胶中有它的 N 端区域,接着是一个单次跨膜片段,以及在内质网腔中的 C 端区域(图 A15-4A)。

B. N 端的信号序列起始蛋白质 N 端结构域的转移直到被终止转移序列终止。在始转移序列再次起始转移之前,细胞质结构域被合成。这种情况就像(A)图所描述的,蛋白质的 C 端结构域被转移到内质网腔。因此合成的蛋白质跨膜两次。其 N 端和 C 端结构域都在内质网腔,两个跨膜区域之间的环状结构域暴露在胞质溶胶中(图 A15-4B)。

C. 这需要一个剪切的信号序列,跟随着内部终止转移序列,以及一对起始和终止转移序列(图 A15-

4C)。

这些例子证明复杂蛋白质的拓扑结构可以通过图 15-16和图 15-17 中所示的两种基本机制的变化和组合来实现。

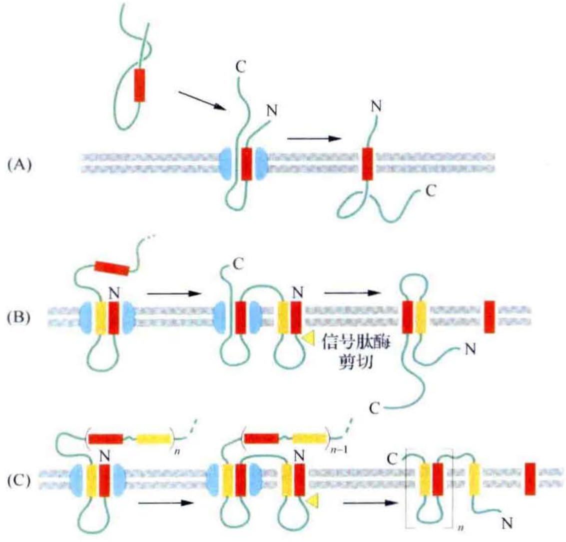


图 A15-4

答案 15-5 A. 没有将网格蛋白连接到膜上的衔接蛋白存在，网格蛋白外被就不能聚合。当网格蛋白处于高浓度并且在适当的离子条件下，笼状网格蛋白可在溶液中聚合，但它们是空壳，缺少其他的蛋白质，也不含有膜。这说明形成网格蛋白篮筐的信息包含在网格蛋白分子本身，因而它可以自聚合。

B. 没有网格蛋白，衔接蛋白仍然结合到膜上受体，但是不会有网格蛋白外被的形成，因而也没有网格蛋白包被小凹或囊泡产生。

C. 深度内陷的网格蛋白包被的凹陷在膜上形成，但它们没有完全地掐断而形成闭合的囊泡（图 A15-13）。

D. 原核细胞不能履行胞吞作用。因此原核细胞不含有任何带有合适胞质尾部并能介导衔接蛋白结合的受体。所以，没有网格蛋白的结合，也没有网格蛋白包被聚合。

答案 15-6 预先装配的糖链可以更好地控制质量。装配好的低聚糖链在加到蛋白质上之前即可以检查其精确性；如果逐个加糖到蛋白质，那么该过程中一旦产生错误，整个蛋白质就废弃了。由于构建一个蛋白质比构建一个低聚糖链消耗更多的能量，所以这是一个更经济的策略。同时，一旦分叉的糖链被加到蛋白质上，对于修饰它们的分支的酶来说，比修饰游离态的糖分支难度更大。这一难度在蛋白质移动到细胞表面时更为明显：尽管在分泌途径的各个区间中糖链被酶持续不断地修饰，这些修饰常是不充分的，导致离开细胞的糖蛋白相当不均一。这种不均一性很大程度上是由于酶很难到达附着在蛋白质表面的糖链上。这种异质性也解释了为什么研究和纯化糖蛋白比非糖化蛋白更困难。

答案 15-7 分泌蛋白的聚集物会在内质网形成，就像在反式高尔基网络腔中那样。由于这种聚合特异性地针对分泌蛋白，因此内质网蛋白会被排除在外。这种聚合物最终会被降解。

答案 15-8 没有结合铁的转铁蛋白就不能与它的受体相互作用，一直在血液中循环，直到它抓住一个铁离子。一旦与铁离子结合，铁-转铁蛋白复合物可以结合到细胞表面的转铁蛋白受体上并且被内吞。在内体的酸性条件下，转铁蛋白释放铁离子，但是转铁蛋白仍然结合在转铁蛋白受体上，再循环回细胞表面。在这里，它遇到血液中中性的 pH 环境。中性 pH 引起受体释放转铁蛋白到循环中，在这里转铁蛋白结合新的铁离子重复此循环。在核内体被释放出来的铁离子，就像图 15-33 中的 LDL 一样，继续前进到溶酶体，从那里再被转运到细胞质。

该系统允许细胞在血液中铁离子浓度极低的情况下高效摄取铁离子。结合在转铁蛋白上的铁离子因与细胞表面的转铁蛋白受体结合而浓缩；随后它在网格蛋白包被的凹陷中进一步浓缩，因为它可聚集转铁蛋白受体。

通过这样的方法，转铁蛋白循环于血液和内体之间传递细胞生长所需的铁离子。

答案 15-9 A. 正确。

B. 错误。引导蛋白质到内质网膜的信号序列包含一个含 8 个以上疏水氨基酸的核心。这里显示的这个序列包含很多亲水氨基酸侧链，包括带电氨基酸组氨酸、精氨酸、天冬氨酸和赖氨酸，以及不带电的亲水氨基酸谷氨酰胺和丝氨酸。

C. 正确。否则它们不能锚定在正确的膜靶点，或不能招募融合复合体到锚定点。

D. 正确。

E. 正确。溶酶体蛋白在反式高尔基网络中被选择并打包到转运囊泡，后者将它们传送到晚期内体。没被选择的溶酶体蛋白默认进入转运囊泡，连续不断地移动到细胞表面。

F. 错误。溶酶体也通过自噬作用消化内源细胞器。

G. 错误。线粒体不参与囊泡转运，因此，纯粹在内质网上装配的 *N*-连接糖蛋白不能被转运到线粒体。

答案 15-10 它们必须也包含一个核定位信号。带有核输出信号的蛋白质在细胞核和细胞质之间穿梭。一个例子是 A1 蛋白，它在核内结合在 mRNA 上并引导它们穿过核孔。在细胞质中，核定位信号确保 A1 蛋白可重新入核，所以它可以参与更多 mRNA 的输出。

答案 15-11 流感病毒通过内吞作用进入细胞然后被递送到内体，在这里它处于酸性的 pH 中，激活了它的融合蛋白。病毒的膜与内体膜融合，释放病毒基因组到细胞质(图 A15-11)。NH_3 是一个可以迅速穿透膜的小分子。因此，它可以通过扩散作用进入所有包括内体在内的细胞内区室。一旦区室内是酸性 pH，NH_3 结合 H^+ 形成 NH_4^+，这是一个带电离子因而不能通过扩散作用穿膜。NH_4^+ 离子因此在酸性区室聚集并升高 pH。当内体的 pH 升高，病毒依然被内吞，但是由于病毒融合蛋白不能被激活，因而病毒不能进入细胞质。记住这个例子，下次你患流感的时候赶快到马厩里去。

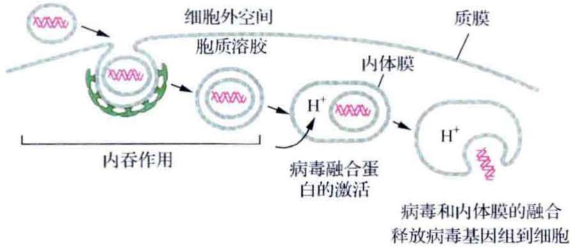


图 A15-11

答案 15-12 A. 问题是囊泡膜上有两种不同的 v-SNARE，它们能锚定在两种不同膜的任意一种上。

B. 这个难题的答案目前还不知道，但我们预测细胞一定有调控 SNARE 锚定能力的开关。这可以通过其他的蛋白质实现，例如，在内质网中与 SNARE 共包装进入转运囊泡，以及促进正确的 v-SNARE 和 t-SNARE在顺式高尔基网络中的相互作用。

答案 15-13 突触传递涉及胞吐作用释放神经递质。在这个过程中，突触囊泡的膜与神经末端的质膜融合。新的突触囊泡的膜必须通过内吞作用从质膜上获取。如果动力蛋白有缺陷，内吞过程将被阻断，因为需要该蛋白切断网格蛋白包被的内吞囊泡。解析动力蛋白作用的第一条线索来自电镜下突变果蝇的突触(图 A15-13)。请注意在质膜上有很多烧瓶状内陷，表示深深内陷的网格蛋白包被凹陷不能掐断。内陷颈部周围的环状物由突变动力蛋白造成。

图 A15-13 来自 J. H. Koenig and K. Ikeda，*J. Neurosci.* 9:3844-3860，1989. 得到神经科学学会的许可。

答案 15-14 前两句话是对的，第三句是错的。应该说成："因为分泌或内吞途径中内质网腔或其他区室的内容物从不与胞质溶胶混合，进入这些通路的蛋白质不会需要再次被输出。"当核被膜在有丝分裂等过程中分解，即离开染色质，它的膜蛋白与内质网膜蛋白混合，但是它的内容物仍然通过一个完整的膜与细胞质分开。

答案 15-15 蛋白质会转移到内质网。此蛋白质一离开核糖体它的内质网信号序列就被识别。核糖体进而结合在内质网膜上，生成的多肽链通过内质网转运通道转移。因而核定位序列从未暴露于胞质溶胶，它永远不会遇到核输入受体，因此该蛋白质不会入核。

答案 15-16 (1) 蛋白质在被合成、折叠并且合适地装配成复合物后入核。相反，未折叠的多肽链在被核糖体合成的过程中就被转移到内质网。核糖体在核内装配但在胞质溶胶中发挥功能，催化 RNA 转录和剪切的酶复合物在细胞质装配但在核内发挥功能。因此，核糖体和酶复合物都要被完整地通过核孔转运。

(2) 核孔是门孔，总是对小分子开放；相反，内质网膜上的转运通道通常是关闭的(如图 15-15 中"塞子"所示的)，只有当核糖体与膜结合并且转运的多肽链将通道对细胞质封闭时才开放。在转运过程中，内质网膜对小分子保持不可通透性是非常重要的，因为内质网是细胞内 Ca^{2+} 的主要储存处，Ca^{2+} 释放到胞质溶胶必须被严格调控(在第 16 章有讨论)。

(3) 在蛋白进入核后，核定位信号不会被剪切；相反，内质网信号肽会被切除。在有丝分裂时核被膜分解，核定位信号被释放到细胞质后，它们需要被重复地用于运载核蛋白入核。

答案 15-17 在有丝分裂过程中细胞核和细胞质内容物的短暂混合支持核内容物和胞质溶胶在进化上是相关的观点。实际上，我们可以认为细胞核是胞质溶胶的亚区室，它被核被膜环绕，只以核孔作入口。

答案 15-18 实际的解释是单个氨基酸的变化引起蛋白质细微的错误折叠，因此，尽管它仍然具有蛋白酶抑制剂的功能，但当它离开内质网时被其中的伴侣

蛋白阻止。因此它聚集在内质网腔并最终被降解。另一种解释是突变影响了蛋白质在血液中的稳定性，所以它比正常蛋白质降解得快得多，或者是突变使内质网信号序列失活并且阻止蛋白质进入内质网。另一个解释是突变体改变 DNA 序列，产生了内质网保留信号，使突变蛋白质保留在内质网。区分这些可能性的办法是用荧光标记的该蛋白的抗体或者将此蛋白与 GFP 融合表达以追踪它在细胞内的转运（图版 4-6 和“我们如何得知”）。

答案 15-19 评论：Outonalimb 博士计划研究遗忘蛋白的生物合成，这是一个非常有意思的蛋白。但是这个计划的主要假设需要进一步的支持。特别是，遗忘蛋白是不是如计划中所说的确实是一个分泌蛋白。内质网信号序列通常存在于 N 端，只有当蛋白质合成已经结束，因而不会在翻译过程中被 SRP 识别后，C 端的疏水序列才会暴露在核糖体外。因此，遗忘蛋白可能不是通过 SRP-依赖的机制转运；它更可能仍然存在于胞质溶胶内。Outonalimb 博士在递交修订后的申请时应考虑这些提议。

答案 15-20 高尔基体可能是内质网膜上的特殊斑片进化而来的。内质网的这些区域可能已经掐断，形成新的区室（图 A15-20），仍然通过囊泡转运与内质网交通。为了新进化的高尔基区室有作用，转运囊泡也应该进化。

答案 15-21 这是一个鸡和蛋的问题。事实上，尽管这是第一个进化的细胞存在的严重问题，但在今天

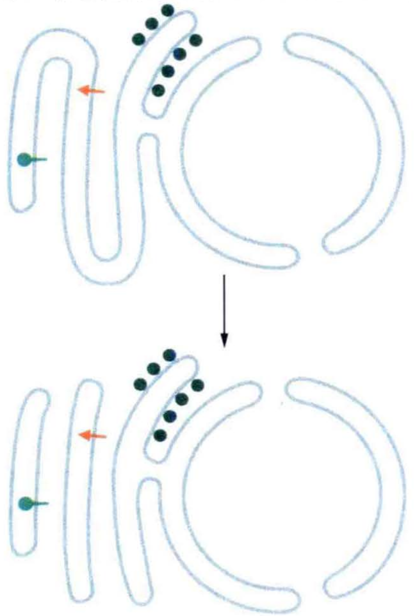


图 A15-20

这种情况不会出现。新的细胞膜是由已有的膜扩展产生，内质网从来不会从头形成。总是会有携带转运通道的内质网片段与新的转运通道整合。遗传不仅仅限于传递基因组；细胞的细胞器也被一代代传递下来。事实上，内质网转运通道可以被追踪到结构相关的原核细胞质膜转运通道。

答案 15-22 A. 细胞外空间

B. 胞质溶胶

C. 质膜

D. 网格蛋白包被

E. 膜上深深内陷的网格蛋白包被小凹

F. 捕获的货物颗粒

G. 深深凹陷的网格蛋白包被小凹的腔

第 16 章

答案 16-1 大多数旁分泌信号分子是非常短命的，当它们从信号传导细胞中释放出来后，会很快地降解：不是被胞外酶所降解，就是被附近的靶细胞所迅速接纳。另外，一些分子会与细胞外基质相连接，从而无法扩散得很远。

答案 16-2 极性基团是亲水性的，胆固醇则只带有一个—OH 基，因此它的疏水性太强从而不能成为高效能的激素。因为胆固醇实际上不溶于水，所以作为一个信使很难借助胞外液体从一个细胞转移到另一个细胞。

答案 16-3 该蛋白会是一种酶，产生许多小的胞内信号分子诸如 cAMP 或是 cGMP。或者，是通过磷酸化等方式修饰大量胞内靶蛋白的另一种酶。

答案 16-4 就类固醇受体来说，类固醇和受体形成一对一的复合物结合到 DNA 上从而激活或是抑制转录。因此在配体结合和转录激活之间没有放大作用。放大在随后发生，因为靶基因转录会产生许多 mRNA 分子，而每一个 mRNA 分子翻译又会产生许多蛋白质分子（见第 7 章）。对于离子通道偶联受体，一个离子通道在它打开时会流过成千上万个离子，这就是此类信号系统的放大步骤。

答案 16-5 突变的 G 蛋白将几乎持续活化，这是因为 GDP 会自发地解离，使得即使在没有活化的 G 蛋白偶联受体存在的情况下，GTP 也可以和 G 蛋白结合。这样一来，细胞的行为将会与受霍乱毒素处理后的情况相似，G_s 的 α 亚基的改变使得它不能水解 GTP 从而关闭自身。与霍乱毒素所引起的情况不同的是，突变的 G 蛋白不会永久停留在活化状态：它会使自身正常地去关闭，但由于 GDP 的解离和 GTP 的重新结

合而立刻再次被激活。

答案 16-6 快速的分解使得 cAMP 浓度保持在低水平上。腺苷酸环化酶可以催化产生新的 cAMP，cAMP 初始浓度越低，通过腺苷酸环化酶而获得的增幅就越大。如果你在银行已经存有 100 美元，然后又存入 100 美元，那么你的财富就增加 1 倍；如果你本来就只有 10 美元，然后再存 100 美元，那么你的财富就增加了 10 倍，存款相同但增长的比例却大得多。

答案 16-7 回忆一下，质膜的面积与细胞中总的膜表面积相比是很小的（见第 15 章）。内质网要远远丰富的得多，作为一个由膜管和膜层组成的庞大网络，它充满了整个细胞。这使得储存在内质网中的 Ca^{2+} 可以被释放到整个胞质溶胶中。而通过 Ca^{2+} 泵将 Ca^{2+} 快速地从胞质溶胶中清除掉也是很重要的，因为这可以阻止 Ca^{2+} 在胞质溶胶中扩散至任何太远的距离。

答案 16-8 参与放大系统的每个反应都必须能被关闭，从而将信号通路重新置于静息水平。这些关闭了的开关中的每一个都是同样重要的。

答案 16-9 因为每个抗体有两个抗原结合部位，所以与受体的结合能够在细胞表面引起受体的簇集。这种簇集可能会激活通常由二聚化激活的受体酪氨酸激酶。对于受体酪氨酸激酶，簇集允许单个的受体激酶结构域磷酸化簇集中附近的受体。G 蛋白偶联受体的激活则更为复杂一些，因为配体必须引发某种特定的构象变化，只有非常特异的抗体才能很好地模拟受体的配体而引发可激活 G 蛋白偶联受体的构象变化。

答案 16-10 胞内信号传导途径越多，细胞调控途径的地方就越多，放大信号、整合不同的信号和沿着分叉的途径传播信号（图 16-13）。

答案 16-11 A. 正确。比如，乙酰胆碱通过结合一种 G 蛋白偶联受体而减弱心肌细胞的搏动，通过结合另一种不同的乙酰胆碱受体而刺激骨骼肌细胞的收缩。这种受体是一种配体门控离子通道。

B. 错误。乙酰胆碱寿命很短且只能局域性地发挥其作用。事实上，延长它的寿命是灾难性的。通常乙酰胆碱酯酶分解位于神经-肌肉突触的乙酰胆碱，抑制它的化合物具有很强的毒性，一个例子是作为化学武器的神经毒气沙林就是一个乙酰胆碱酯酶的抑制剂。

C. 正确。无核苷酸的 βγ 复合物能够激活离子通道，结合了 GTP 的 α 亚基能够激活酶。而与 GDP 结合的三聚体 G 蛋白处于非活化状态。

D. 正确。由肌醇磷酸酯切割而产生的 IP_3 包含了三个磷酸基团，其中一个连接糖和二酰甘油酯。IP_3 通过一个简单的水解反应产生（图 16-25）。

E. 错误。钙调蛋白只能探测细胞内钙离子水平，而不能调节它。

F. 正确。见图 16-39。

G. 正确。见图 16-30。

答案 16-12 1. 由于 Ras 信号不能被有效地关闭，你会看到很高的 Ras 活性背景。

2. 由于一些 Ras 分子已经结合了 GTP，对某一细胞外信号做出反应的 Ras 活性将远高于正常情况。但是，当所有 Ras 分子都转变为 GTP 结合状态时则会容易达到饱和。

3. 对某一信号的应答将大大放慢，因为信号依赖的 GTP 结合态 Ras 的增加将出现在已存在的 GTP 结合态 Ras 已经升高的本底上。

4. 相比于正常细胞中的响应，Ras 对一个信号的响应活性的增加将会被延长。

答案 16-13 A. 两类信号都能够长距离传送：神经元能够沿着很长的轴突（例如，想一想长颈鹿脖子上的轴突）传送动作电位，而激素则通过血液传到机体各处。由于在一个突触处神经元分泌大量的神经递质到两个细胞之间小而明确的空间，所以浓度非常高，从而神经递质受体只需以低亲和力与神经递质结合。相反，激素在血液中被极大地稀释，它们以很低的浓度进行全身循环。因此，激素受体一般以极高的亲和力与响应激素结合。

B. 激素的信号是一个“公开的通告”，任何带有合适受体的靶细胞都能响应血液中的激素；而神经信号则是一个“私人事件”，一个神经元通过特定的突触联系与选定的靶细胞通讯。神经信号传递速度很快，仅被动作电位的传播速度与突触的工作情况所限制；而激素信号则比较慢，其限制因素是血液流动和长距离的扩散。

答案 16-14 A. 细胞中共有 100 000 个 X 分子和 10 000 个 Y 分子（分子个数＝合成速度×平均寿命）。

B. 1 s 后，X 的浓度将增加 10 000 个分子，因此，当合成增加开始 1 s 后，X 分子的浓度为每细胞 110 000个分子——比开始合成前的浓度增加 10%。Y 的量也将增加 10 000 个分子，与 X 相比，其浓度增加整整两倍。（为简化问题，我们可以忽略这一过程中的降解，因为在 1 s 的刺激时间内，X 和 Y 是相对稳定的。）

C. 由于增加的比例更高，Y 是更合适的信号分子。这一计算表明一个令人惊奇但却非常重要的规则：开启一个信号所需的时间取决于信号分子的寿命。

答案 16-15 细胞信号通路所传递的信息包含在

信使分子的浓度之中，而信使可以是小分子或磷酸化的蛋白质。因而，为了能够检测一个浓度的变化，原来的信使分子必须被快速清除掉。信使分子越不稳定，系统对变化能应答得越快。人与人之间的交流依赖于那些仅被传递一次的信息，这些信息不是通过它们的量来解释的，而是通过其"内容"。所以不要杀那些信使，它们可以被多次利用。

答案 16-16 A. 突变的缺乏其胞外配体结合结构域的受体酪氨酸激酶是无活性的，它不能与胞外信号结合，它的存在也不会影响正常受体激酶的功能(图 A16-16A)。

B. 此突变受体也是无活性的，但当它们存在时能够阻断正常受体介导的信号转导。配体与突变的和正常的受体结合都可以引起它们的二聚化。两个正常的受体必须聚在一起通过磷酸化来相互激活，但是当有过量的突变受体存在时，正常受体通常与之形成混合二聚体，正常受体的胞内域不能被激活，因为它们的伙伴是突变的缺少激酶结构域的(图 A16-16B)。

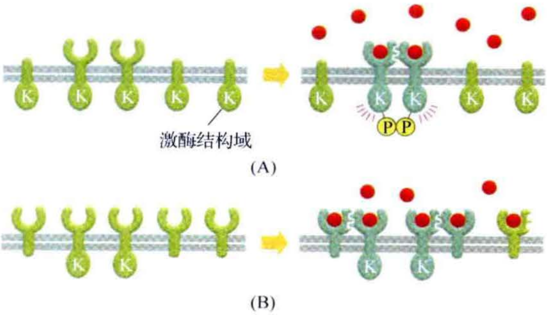


图 A16-16

答案 16-17 这个叙述是正确的。配体结合后，多跨型受体如 G 蛋白偶联受体的跨膜螺旋彼此之间相对迁移和重排(图 A16-17A)。由于位于胞质溶胶区的环结构的重排，这一构象的变化可在膜的一侧被感受到。单独的一个跨膜片段不足以穿越膜而直接传递信号。配体结合后，膜内也不可能发生重排。像受体酪氨酸激酶这一类的单跨型受体在与配体结合后会二聚化，使那些胞内的酶结构域靠近并相互磷酸化从而相互激活(图 A16-17B)。

答案 16-18 两个反应中的激活都依赖于这样一些蛋白质，它们催化 G 蛋白或 Ras 蛋白上的 GDP/GTP 交换。所不同的是，G 蛋白偶联受体可直接为 G 蛋白行使此功能，而那些酶联受体被磷酸化后则先将多个信号蛋白装配进一种信号复合物，其中之一是一个接头蛋白，它招募一个 Ras 激活蛋白来为 Ras 完成这个功能。

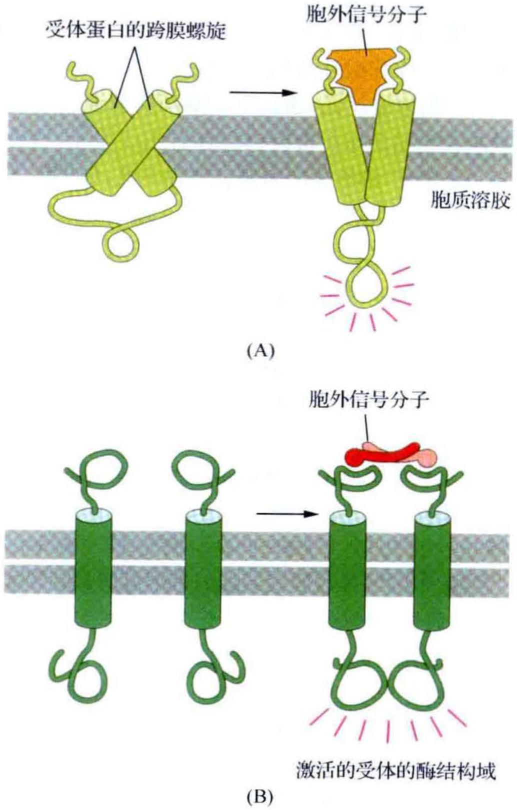


图 A16-17

答案 16-19 因为细胞内钙离子浓度非常低，相对来说很少的 Ca^{2+} 流入量就可导致胞质溶胶 Ca^{2+} 浓度的较大变化。因此，只需将 Ca^{2+} 浓度升高到微摩尔浓度范围就能使其水平增加到 10 倍，与浓度较高的离子如 Na^{+} 相比，显著改变浓度所需的离子要少得多。在肌肉中，从肌质网的胞内储存释放 Ca^{2+} 能在 1 μs 内实现大于 10 倍的变化，如果该变化要求在毫摩尔范围进行，则难以完成任务。

答案 16-20 在多细胞机体如动物中，细胞适时适地地存活是非常重要的。让细胞的存活依赖于其他细胞产生的信号，也许是保证做到这一点的一个简单办法。比如，生长在不适宜位置的细胞也许不能得到它所需要的存活信号(因为它的邻居不适宜)，于是它就会自杀。如下的策略也能帮助调节细胞数量：如果 A 类细胞依赖于来自 B 类细胞的一个存活信号，那么通过只产生有限量的存活信号，B 细胞的数量就可以控制 A 细胞的数量，其结果是只有一定数量的 A 细胞存活下来。确实有证据表明，上述的机制在发育中的和成熟的组织中都参与帮助调节细胞数量(图 18-41)。

答案 16-21 Ca^{2+} 激活的 Ca^{2+} 通道产生了一个正

反馈回路：Ca^{2+} 被释放越多，越多的通道开放。因此，胞质溶胶内的 Ca^{2+} 信号暴发式地传送到整个肌细胞，从而确保所有的肌球蛋白/肌动蛋白丝几乎同时收缩。

答案 16-22 K2 激活 K1。如果 K1 持续活化，可以观察到不依赖于 K2 状态的反应。如果次序颠倒一下，需要由 K1 来激活 K2，那么，由于在我们的例子中 K2 包含一个失活突变，活化将不能够实现。

答案 16-23 A. 3 个延伸信号转导途径进入核的例子是：①胞外信号→受体酪氨酸激酶→效应蛋白→Ras 激活蛋白→MAP 激酶激酶激酶→MAP 激酶激酶→MAP 激酶→转录调控蛋白；②胞外信号→G 蛋白偶联受体→G 蛋白→磷脂酶 C→IP_3→Ca^{2+}→钙调蛋白→CaM 激酶→转录调控蛋白；③胞外信号→G 蛋白偶联受体→G 蛋白→腺苷酸环化酶→环化 AMP→PKA→转录调控蛋白。

B. 两个直接进入核的信号转导途径的例子是：①细胞因子→细胞因子受体→JAK 激酶→STAT；②Delta→Notch→切割 Notch 尾巴→转录。

答案 16-24 当 PI3 激酶被活化的受体酪氨酸激酶所激活时，它磷酸化一个质膜上特异的肌醇磷酸酯。磷酸化的肌醇磷酸酯然后在质膜上招募 Akt 和另一种负责磷酸化并激活 Akt 的蛋白激酶。第三个激酶在膜上一直存在，同样帮助激活 Akt(图 16-33)。

答案 16-25 动物和植物被认为是独立进化着的多细胞性生物，因此可以理解它们进化出了迥异的信号传导机制来进行细胞间的相互交流。另外，动物和植物又都是从同一个真核祖先细胞进化过来的，所以动植物应该分享一些共同的胞内信号传导机制，即它们的共同祖先细胞用来响应外界环境的那些。

第 17 章

答案 17-1 从一处快速移动到另一处的细胞如变形虫(A)和精子(F)通常在细胞质中不需要中间丝，因为它们既不产生也不承受张力。植物细胞(G)受到风力和水流的推拉，但它们通过自己坚韧的细胞壁来抵挡这些外力而不是通过细胞骨架。而上皮细胞(B)、平滑肌细胞(C)和神经细胞的长轴突则富含中间丝，可防止它们在受到周围组织运动引起牵拉时破裂。

上述所有真核细胞的核被膜中至少含有中间丝。细菌如大肠杆菌(D)，则根本没有任何中间丝。

答案 17-2 两个微管蛋白二聚体之间的亲和力(相互作用的位点有限)比一个微管蛋白二聚体和微管末端的亲和力要低(可能发生相互作用的位点很多，如微管蛋白二聚体以末端对末端的方式添加到一条原丝上去，或是以旁侧对旁侧的方式与相邻原丝中的微管蛋白亚基结合，均可形成环状的横切面)。因此，要从头开始形成微管，就必须有足够的微管蛋白二聚体聚集在一处，并保持相当长时间的相互结合，这样有利于其他微管蛋白分子添加上去。只有当一定数量的微管蛋白二聚体已经聚集起来时，其余的亚基才能添加上去。因此，这种最初的"成核部位"的形成不太常见，在胞内微管蛋白的浓度下它不会自发产生。

中心体含有预先聚合的 γ-微管蛋白环(这里的 γ-微管蛋白的旁侧对旁侧的结合力要比 αβ-微管蛋白之间的结合力强得多)，αβ-微管蛋白二聚体可与之结合。微管蛋白的结合条件与添加到已聚合的微管末端的条件相仿。因此，中心体中的 γ-微管蛋白环可被看作是一个永久性的预先装配好的"成核部位"。

答案 17-3 A. 由于失去了 GTP 帽，微管缩短了。也就是说，末端的微管蛋白亚基都以结合 GDP 的形式存在。溶液中带有 GTP 的微管蛋白亚基仍会添加到这个末端上去，但是它们是短命的——这是因为要么 GTP 被水解，要么微管蛋白亚基由于它们周围的一圈微管解散而都掉了下来。但是，如果足够多的带有 GTP 的亚基以够快的速度添加上去并遮盖微管末端上带有 GDP 的微管蛋白亚基，这时就可产生一个新的 GTP 帽，微管也就重新开始生长。

B. 当微管蛋白浓度较高时，GTP-微管蛋白的添加速度就会比较快。因而，缩短中的微管转变为增长的概率也会随微管蛋白浓度的升高而增加。这种调节的结果使整个系统达到自身平衡：越多的微管发生缩短(造成高浓度的游离的微管蛋白)，微管重新生长的概率也就越大。反过来，微管生长越多，就会出现游离的微管蛋白的浓度下降，GTP-微管蛋白的添加速率也随之减慢；在某些部位 GTP 水解的速率会追上新的 GTP-微管蛋白的添加速度，造成 GTP 帽被破坏，微管又开始进入缩短状态。

C. 如果只有 GDP 存在，微管会持续短缩并最终消失。这是因为结合有 GDP 的微管蛋白二聚体相互间的亲和力非常低，不可能被稳定地添加到微管上去。

D. 如果有 GTP 存在并且不能被水解时，那么微管将会持续生长，直到所有游离的微管蛋白亚基全部耗尽。

答案 17-4 如果所有的动力蛋白臂都同等活跃，那将不会产生弯曲时所需要的微管之间显著的相对运动(请设想有 9 个举重运动员围成一圈，个个都想把自己旁边的人举起来。如果他们个个都成功的话，这一组人将会浮在空中！)。因此，在纤毛一侧的数个纤毛动力蛋白分子必须有选择地被激活。当它们将各自相

邻的微管推向纤毛顶端时，纤毛就弯曲并背向含有活化动力蛋白的一侧。

答案 17-5 任何一种肌动蛋白结合蛋白若可以稳定由两个或更多肌动蛋白单体组成的复合物，且不封闭蛋白丝生长所需的末端，则这种肌动蛋白结合蛋白会促进新的蛋白丝的产生（成核过程）。

答案 17-6 只有装配在肌动蛋白丝里的肌动蛋白分子的荧光才是可见的，这是因为没有装配的肌动蛋白分子扩散很快，它们产生昏暗均一的背景光。在你的实验中，只有极少的肌动蛋白分子是标记荧光的（1∶10 000），每根肌动蛋白丝上最多只有一个肌动蛋白单体被标上了荧光（图 17-29）。从总体上说，片状伪足含有许多肌动蛋白丝。有些肌动蛋白丝相互重叠，因此肌动蛋白分子的荧光呈斑点状。

这个荧光斑点成像技术可以用来研究迁移的细胞中聚合的肌动蛋白的移动。如果你能长时间观察，你会发现单个荧光斑点从爬行的前沿向细胞内部平稳地移动。无论细胞是否在迁移，这种荧光斑点的移动都会发生。荧光斑点发生向后的移动，是因为肌动蛋白单体加在肌动蛋白丝的正极，而从它的负极上掉下来（在这里发生肌动蛋白丝的解聚）（图 17-34B）。肌动蛋白单体从肌动蛋白丝上有效地移动，这种现象称为“踏车现象”。踏车现象发生在溶液中分离的肌动蛋白丝上，也出现在有丝分裂的纺锤体中。

答案 17-7 细胞含有肌动蛋白结合蛋白，它们使肌动蛋白成束或发生交联（图 17-31）。从片状伪足和丝状伪足延伸过来的这些丝稳固地结合在细胞皮层的丝网上，为生长中的棒状纤维提供它所需要的机械锚接，使细胞膜变形。

答案 17-8 虽然这些亚基确实由较弱的非共价键相连而成，但是它们的数量是极其巨大的，分布在极其大量的纤维中。其结果是，一个人因举起重物而产生的张力被分散在如此多的球蛋白丝和肌动蛋白丝组成的亚基上，因而不超越它们相互作用的强度。与此相类似的是，一根蚕丝并不足以支撑一个人的重量，但一根无数蚕丝制成的绳索可以。

答案 17-9 两种蛋白丝均由二聚体形式的亚基组成，它们靠卷曲螺旋的相互作用而维系在一起。而且在两种情况下，二聚体通过它们的卷曲螺旋域聚合而成。中间丝的二聚体是以头对头的形式组成丝的，因而形成的蛋白丝是没有极性的，而所有位于肌球蛋白丝同一半侧的肌球蛋白分子则以头部朝向同一方向的方式排列。这一极性对于它们在肌肉中形成收缩力是必需的。

答案 17-10 A. 在肌动蛋白丝中，相连的肌动蛋白分子在构象和位置上都是完全相同的。当第一个蛋白质（如肌钙蛋白）结合到肌动蛋白丝上后，绝无第二个蛋白质能识别一条裸露的肌动蛋白丝中相连的 7 个单体。然而，原肌球蛋白沿一条肌动蛋白丝长度方向结合，恰好跨越了 7 个单体，因而提供一把分子“尺”，度量 7 个肌动蛋白单体的长度。肌钙蛋白通过结合在一个原肌球蛋白分子的末端而得以定位。

B. 只有当肌钙蛋白（结合 Ca^{2+}）和原肌球蛋白（将肌钙蛋白结合 Ca^{2+} 的信息传递到肌动蛋白丝去）同时存在时，Ca^{2+} 方能影响肌动蛋白-肌球蛋白系统中的力的产生。①没有原肌球蛋白，肌钙蛋白就不能结合肌动蛋白。肌动蛋白丝可能被持久地暴露给肌球蛋白。因而，不管有没有 Ca^{2+} 的存在（此时的肌细胞将一直处于收缩状态，无法被调节），此系统将持续处于活化状态。②原肌球蛋白可能会与肌动蛋白相结合，进而完全阻止肌球蛋白的结合。不管钙离子是否存在，这个系统将会持续处于失活状态，因为原肌球蛋白是不受 Ca^{2+} 影响的。③这个系统将对 Ca^{2+} 做出反应而产生收缩。

答案 17-11 A. 对。ER 持续地向外移动是必需的。如果没有微管，ER 就会朝向细胞中心坍塌。

B. 对。在细胞分裂时，将两个子细胞分开的收缩环需要肌动蛋白，而将染色体分到两个子细胞中去的纺锤体是由微管组成的。

C. 对。两种伸展都和跨膜蛋白相关。这些跨膜蛋白从细胞质膜突起，使得细胞能在接触面上形成新的锚定点。

D. 错。为了引起弯曲，ATP 需要被结合在鞭毛外侧微管上的动力蛋白（马达蛋白）水解。

E. 错。细胞不重排其中间丝，就不能进行分裂。但是，许多终末分化的细胞以及长寿命的细胞如神经细胞，就有稳定的中间丝，目前还没有发现它们有解聚的现象。

F. 错。微管生长的速度与 GTP 帽的大小无关。微管正极和负极的生长速度之所以不一样是由于它们对于进来的微管蛋白亚基具有物理性质不同的结合部位，因而微管蛋白亚基在两端添加上去的速率是不同的。

G. 对。这两者都是很好的例子，说明同样的细胞膜如何会有为某一特殊功能而高度特化的区域。

H. 错。肌球蛋白的磷酸化或 Ca^{2+} 与肌钙蛋白的结合，激活肌球蛋白运动。

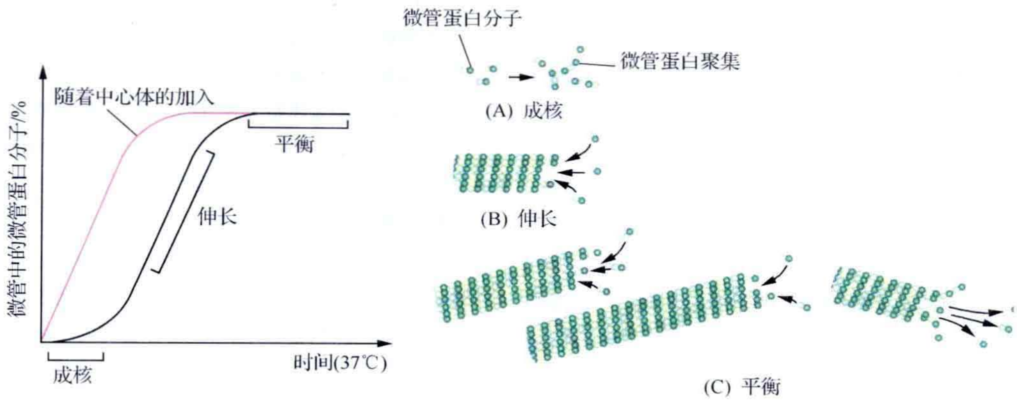


图 A17-19

答案 17-12 小分子(如 ATP)扩散 10 μm 距离所需的平均时间可由下式计算求出

$(10^{-3})^2/(2\times5\times10^{-6}) = 0.1$ s

同样，一个蛋白质分子平均需要 1 s 而一个小泡平均需要 10 s 来移动 10 μm。一个小泡大概平均需要 10^9 s，即 30 年以上才能扩散到一个 10 cm 长的轴突末端。通过这个计算，我们可以清楚地看到为什么会进化产生驱动蛋白和其他马达蛋白用来沿着微管运输分子和细胞器。

答案 17-13 ① 动物细胞相当大，形状多变，而且没有细胞壁，因而需要细胞骨架来支撑并保持其形状。

② 动物细胞以及其他真核细胞都有细胞核。中间丝维持细胞核的形态并保持细胞和位于细胞中的适当位置。核纤层附着在核被膜的内面，支撑核被膜并使之成形，中间丝网络包围细胞核并穿行在细胞质中。

③动物细胞可通过改变细胞形状进行移动。在这个运动中，需要肌动蛋白丝和肌球蛋白的参与。

④与细菌相比，动物细胞的基因组大得多，它被分割为许多染色体。当细胞分裂时，染色体必须被精确地分配到两个子细胞中。这个过程需要形成有丝分裂纺锤体的微管参与。

⑤动物细胞具有胞内的细胞器。细胞器在胞内的定位依赖于驱动它们沿着微管移动的马达蛋白。一个值得一提的例子是从脊髓延伸到脚的神经细胞轴突，它的胞内膜被小泡(细胞器)沿着微管运输长达 1 m(3 英尺)的距离。

答案 17-14 一根中间丝的两个末端相互之间是无法区分的，因为中间丝是由对称的四聚体组装而成的，而这种对称的四聚体由两个卷曲螺旋的二聚体组成。与微管和肌动蛋白丝相比，中间丝是没有极性的。

答案 17-15 中间丝没有极性，它的两端在化学组成上是没有区别的。因此，很难设想假如一个马达蛋白结合在中间丝的中间，它将如何感受一个确定的方向。这样的马达蛋白结合到朝向一端或另一端的中间丝上的机会是一样的。

答案 17-16 剑蛋白将沿长轴方向、在远离 GTP 帽的位置上切断微管。因而，这样产生的微管片段在断裂处就带有 GDP-微管蛋白，并迅速解聚。因此，剑蛋白提供了一种可以破坏现存微管的快速工具。

答案 17-17 细胞分裂既依赖于微管的聚合也依赖于它的解聚。纺锤体的形成要求预先解聚细胞的其他微管，以游离出微管蛋白供纺锤体形成之用。这个重排过程在紫杉醇处理的细胞中是无法实现的。而在秋水仙素处理的细胞中，由于无法组装形成纺锤体因而细胞分裂也是被阻断的。在一个更为微妙但同样重要的层面上，这两种药物均能阻断微管的动态不稳定性，因而会干扰有丝分裂中纺锤体的工作，即使一个纺锤体能够被正确地组装起来。

答案 17-18 马达蛋白是单向移动的，驱动蛋白总是朝向微管的正极移动，而动力蛋白朝向微管的负极移动。因此，如果将驱动蛋白黏贴在盖玻片上，那么只有那些相对于微管有正确取向的马达蛋白个体才能与微管结合，并对其施加力以驱使它向前移动。由于驱动蛋白朝微管的正极运动，这样微管就总能以负极向前的方式在盖玻片上移动。

答案 17-19 A. A 相对应于一个延迟相。在这一阶段，微管蛋白分子聚合形成成核中心(图 A17-19A)。成核过程之后的是一个迅速上升(B 相)并到达平台的阶段。在此阶段中，微管蛋白二聚体添加到伸长中的微管的末端(图 A17-19B)。在 C 相中，整个体系中的某些微管迅速生长而另一些迅速缩短，两者达到平衡(图 A17-19C)。游离的微管蛋白的浓度在这个阶段是

恒定的，因为聚合作用和解聚作用两者是平衡的（见问题 17-3）。

B. 在体系中加入中心体，可排除延迟相 A，即图 A17-19 中的红色曲线。微管生长的速率（微管伸长相 B 中曲线的斜率）和游离的微管蛋白的平衡水平均保持不变，因为中心体的存在不影响聚合和解聚的速率。

答案 17-20 从图中可以看出正在缩短的微管的末端已经破碎。由于末端解聚，个别原丝出现分叉和弯曲。因此，这张显微镜照片提示 GTP 帽（已从缩短的微管上落下）的作用是维持原丝正确的相互排列，很可能通过增强 αβ-微管蛋白亚基在它们结合 GTP 时的旁侧相互作用。

答案 17-21 松胞菌素可以干扰肌动蛋白丝的形成，它对细胞的影响证明了肌动蛋白对细胞移动的重要性。秋水仙素处理细胞的实验结果证实，微管赋予细胞极性，这种极性决定细胞的哪一端成为移动的前沿（图 17-13）。在缺失微管的情况下，细胞仍然能做出与运动相关的动作，如片状伪足的伸缩等。但对于失去了极性的细胞来说，这些运动都是徒劳的，因为它们向四面八方杂乱无章地运动。

抗体可以和相应的抗原（在这里是波形蛋白）紧密地结合（图版 4-3）。一旦结合以后，抗体通过防止抗原与其他细胞组分的相互作用而干扰抗原的功能。因此，抗体注射实验提示，中间丝对于细胞极性的维持和运动的机制都不是必需的。

答案 17-22 （B）或（C）都可以正确完成句子。细胞膜上动作电位的直接结果是将 Ca^{2+} 从肌质网释放到胞质中，而肌细胞由于胞质 Ca^{2+} 的迅速升高而触发收缩。Ca^{2+} 在高浓度时结合肌钙蛋白，肌钙蛋白驱使原肌球蛋白移位，暴露出肌动蛋白丝上肌球蛋白的结合位点。（A）和（D）是错的，这是因为 Ca^{2+} 对肌球蛋白头部脱离肌动蛋白没有影响，它是由 ATP 水解造成的。对维持肌球蛋白丝的结构来说，Ca^{2+} 也不起作用。

答案 17-23 只有（D）是正确的。肌肉收缩时，Z 盘相互靠拢，而肌动蛋白丝和肌球蛋白丝都不收缩（图 17-41，图 17-42）。

第 18 章

答案 18-1 所有细胞都由另一细胞分裂产生，这一陈述是正确的。这里假设"第一次细胞分裂"系指获得成功的那个生成细胞的分裂，就如我们所知，一切生命都起源于它。但可能有过许多其他的启动生命链的不成功尝试。

答案 18-2 B 峰中的细胞所含 DNA 是 A 峰中细胞所含 DNA 的两倍，表示它们含有复制好的 DNA，而 A 峰中细胞的 DNA 则未复制。因此 A 峰包含处于 G_1 期的细胞，而 B 峰包含处于 G_2 期和有丝分裂期的细胞。S 期细胞已开始复制 DNA 但尚未完成，因此它们含有不同数量的 DNA，位于两峰之间。大多数细胞处于 G_1 期，表明这是细胞周期中最长的期（图 18-2）。

答案 18-3 对于多细胞生物来说，细胞分裂的控制是极为重要的。如果不是对整个生物有益，单个的细胞必不增生。G_0 状态保护细胞非正常地激活，细胞分裂，因为那时细胞周期控制系统基本被解除。另外，如果一个细胞刚好停留在 G_1 期，它仍会含有全部的细胞周期控制系统，而且仍可能会被引发分裂。此时的细胞还必须不断地做出不分裂的"决定"。如果 G_0 期细胞欲再进入细胞周期，细胞必须合成已消失的组分。

答案 18-4 当 DNA 受到损伤的细胞进行复制分裂的时候，会将突变引入两个子细胞内。这种突变增加了受其影响的子细胞的后代最终变成癌细胞的概率。

答案 18-5 在注射前，蛙卵母细胞中肯定含有非活化的 M-Cdk。一旦注入 M 期细胞质，注射到细胞质中的一小部分活化 M-Cdk 通过激活能去除非活化 M-Cdk 上的抑制性磷酸化基团的活化性磷酸酶（Cdc 25），从而激活了非活化 M-Cdk（图 18-17）。此时已处于 M 期的第二个卵母细胞的提取物，因而含有跟原来胞质提取物一样多的活化 M-Cdk，以下类推。

答案 18-6 实验表明动粒并不预先被指定一个或者另一个纺锤极，微管附着于它们所能触及的动粒。然而为了使染色体保持连接在微管上，必须施加张力。张力通常由来自两个纺锤极的方向相反的拉力产生。这类张力的必要条件是确保：如果两个姐妹动粒相连于同一纺锤极，张力就不会产生，其中一个或两个连接断开，这样来自相对纺锤极的微管就会有另一个机会去正确连接。

答案 18-7 据图 18-31 可看到新核被膜在染色体表面重新组装。核被膜紧靠染色体而聚集，使胞质溶胶蛋白不致被裹进染色体与核被膜之间。核蛋白随后通过核孔有选择地转运入核，使核扩大并保持其特有的蛋白质组分。

答案 18-8 高尔基小泡融合形成两个子细胞的新细胞膜。充满细胞壁物质的小泡内部，变成了分隔两个子细胞的新细胞壁基质。因此，高尔基小泡膜上的蛋白质就变成膜蛋白质。暴露于高尔基腔的那部分蛋白质将最终暴露于新细胞壁外（图 A18-8）。

答案 18-9 在一个真核生物中，存活和繁殖所必

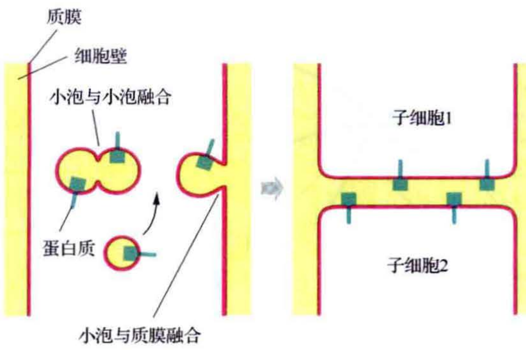


图 A18-8

需的遗传信息分布于多个染色体上，因此有一点是至关重要的，即细胞分裂时每个子细胞接受每条染色体的一个拷贝。如果一个子细胞接受太少或太多染色体，其结果通常是有害的甚至是致死的。在有丝分裂中通过染色体复制仅产生各条染色体的两份拷贝。假如在分裂时细胞随机分配染色体的话，每个子细胞就不可能精确地接受各条染色体的一个拷贝。相比之下，高尔基体破裂为许多相似的小泡，通过随机分配，每个子细胞很可能接受近似等量的小泡。

答案 18-10 由于发育中的组织以及成熟组织都会发生大规模的细胞凋亡，因此它不能触发与通常细胞损伤有关的警戒反应。例如，组织损伤导致信号分子的释放，刺激周围的细胞增殖，因此伤口愈合了。同时它也释放可以引起破坏性的炎症反应的信号。而且，细胞内容物的释放可能引起免疫应答，攻击那些通常不会遇到免疫系统的分子。因此，如果这样的反应发生在针对正常的大规模细胞死亡而做出的响应，那将会是弄巧成拙的。

答案 18-11 由于细胞群体呈指数增长，每次细胞分裂就增加 1 倍重量，这样 N 次分裂后细胞团的质量为 $2^N \times 10^{-9}$ g。因此 70 kg(70×10^3 g)$=2^N\times10^{-9}$ g，或者 $2^N = 7\times10^{13}$，对两边取对数，你可求解这个关于 N 的等式，因此 $N=\ln(7\times10^{13})/\ln 2=46$，即若细胞呈指数性生长，需要 46 天。然而在动物细胞中，细胞分裂受严格控制，且人体中大部分细胞在高度分化后就停止分裂。这一例子表明，即使在胚胎发育期间，细胞的指数生长也仅出现在较短时期内。

答案 18-12 许多动物卵细胞很大而且含有足够的细胞组分储备以维持多次细胞分裂。卵受精后最初几次分裂期间形成的子细胞在大小上逐渐变小，因此它们的产生不需要新蛋白质和 RNA 的合成。受精卵早期分裂不存在细胞增大，而正常分裂的细胞将在 G_1 期、G_2 期以及 S 期等待，直至它们的大小增加 1 倍。实际上 G_1 期和 G_2 期在卵细胞最初几次分裂中均不存在。由于 G_1 期通常比 G_2 期长，G_1 期是缩减得最多的。

答案 18-13 A. 辐射能引起 DNA 损伤，因而激活(由 p53 和 p21 介导的，见图 18-16)检查点机制，阻断细胞周期以完成 DNA 修复。

B. 细胞复制损伤的 DNA，因此当细胞在分裂时会将突变传至子代细胞。

C. 细胞能正常分裂，但容易发生突变，因为自然界中的辐射，如宇宙射线，总会引起一些 DNA 损伤。p53 介导的检查点机制主要作为一种安全措施，防备积累的 DNA 损伤所造成的破坏性结果，而对未损伤细胞中细胞周期的自然进展则无作用。

D. 人类细胞分裂是一种持续的过程，直到细胞成熟，它是生存的需要。例如，血细胞以及皮肤或消化道黏膜的上皮细胞经分裂而不断地产生以满足机体所需。体内仅新生的红细胞每天就产生约 10^{11} 个。

答案 18-14 A. 在 30 min 的标记期间，只有那些处于细胞周期 S 期中的细胞(即正在合成 DNA 的细胞)才含有放射性 DNA。

B. 最初有丝分裂细胞不含有放射性 DNA，因为在标记期间，这些细胞未进入 DNA 合成阶段。实际上，约 2 h 后才开始出现放射性标记的有丝分裂细胞。

C. 曲线最初的上升部分对应于加入放射性胸腺嘧啶时刚完成 DNA 复制的那部分细胞。随着更多的标记细胞进入有丝分裂，曲线上升，曲线顶峰位置对应于放射性胸腺嘧啶加入时刚开始进入 S 期的那些细胞。然后标记的细胞退出有丝分裂，被那些标记时不处于 S 期的未被标记上的有丝分裂细胞所取代。20 h 后，曲线再次开始上升，因为标记的细胞进入第二轮有丝分裂。

D. 在任何标记的有丝分裂细胞出现前最初的 2 h 延滞对应于 G_2 期，它是 S 期结束到有丝分裂开始之间的时间间隔。在有丝分裂中最初见到的标记细胞就是那些在加入放射性胸腺嘧啶时刚好结束 S 期(DNA 合成)的细胞。

答案 18-15 有丝分裂细胞周期蛋白的缺失导致 M-Cdk 失活，结果是其靶蛋白受磷酸酶作用而去磷酸化，细胞退出有丝分裂：细胞分解有丝分裂纺锤体，重组核被膜，染色体解凝聚，等等。有丝分裂细胞周期蛋白在蛋白酶体中以泛素依赖的方式降解。M-Cdk 活化导致 APC 的活化，后者在相当长的推迟后引起细胞周期蛋白泛素化。如第 7 章所述，泛素标记蛋白质，使之在蛋白酶体中降解。

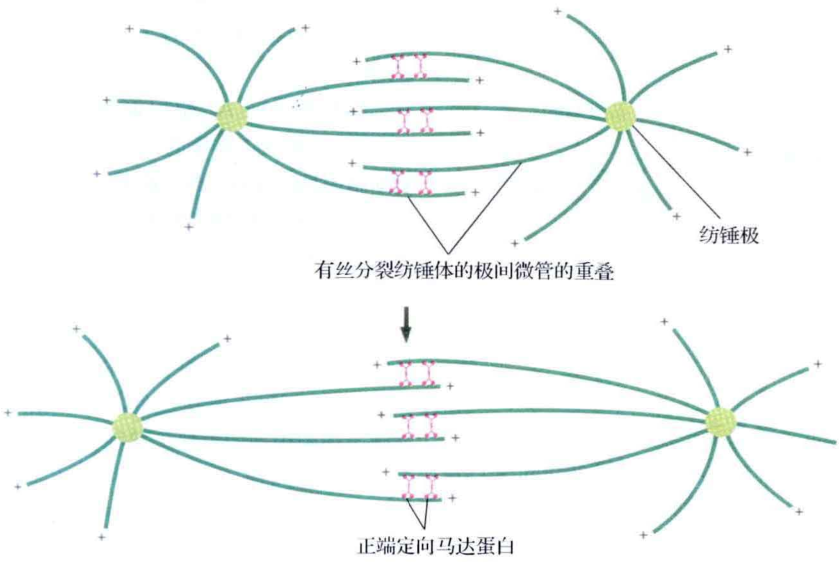


图 A18-19

答案 18-16 有丝分裂细胞周期蛋白因不断合成而逐渐积聚，边积聚边与已存在的有丝分裂 Cdk 分子形成复合物，当达到某一阈值水平时，已形成足量的有丝分裂 Cdk，因而它们被那些合适的激酶和磷酸酶所激活，对它进行磷酸化和去磷酸化。一旦激活，有丝分裂 Cdk 能够加强这些活化的磷酸酶的活性，这种正反馈导致暴发式激活 M-Cdk（图 18-18），因此有丝分裂周期蛋白的积累如同缓慢燃烧的导火线，最终助长触发有丝分裂 Cdk 的暴发性自我活化。有丝分裂细胞周期蛋白急转直下的降解终止了有丝分裂 Cdk 的活性，然后又开始新一轮的有丝分裂细胞周期蛋白积聚。

答案 18-17 顺序为 G、C、B、A、D。这五个步骤一起被称为有丝分裂（F）。有丝分裂中没有步骤受月相的影响（E）。胞质分裂是 M 期的最后一步，与有丝分裂的后期和末期重叠。有丝分裂和胞质分裂都属于 M 期。

答案 18-18 如果在有丝分裂细胞和间期细胞中，微管生长速度相等，则它们的长度与它们的寿命成正比。因此，在有丝分裂中微管的平均长度为 1 μm（= 20 μm×15 s/300 s）。

答案 18-19 如图 A18-19 所示，来自于纺锤体两极的重叠的极间微管其正端指向相反方向。正端定向马达蛋白将邻近的反平行微管横向连接在一起并向推开纺锤体两极的方向移动微管。负端定向马达蛋白同样也将邻近的反平行微管横向连接在一起，但是它们往相反的方向拉动纺锤极，试图将其拉到一起（未显示）。

答案 18-20 当来自一个纺锤极的微管附着到染色单体的动粒上时，该染色单体的命运就已决定。但微管附着是可逆的，直到来自另一纺锤极的第二条微管连接至与它相伴的姐妹染色单体的动粒上。此时复制后的染色体就处于来自两极拉力产生的机械张力之下，这种拉力保证两条微管都保持与染色体连接。核被膜破裂时细胞中染色单体的位置将影响其被拉向哪个纺锤极，因为动粒很可能连接至它所面对的那个纺锤极。

答案 18-21 现在还不确定这是如何工作的。原则上，图 A18-21 中两个可能的模型都可以解释在细胞分裂后期 A，染色体上的动粒如何会产生一种向极的拉力。在（A）中，微管马达蛋白是动粒的一部分，利用 ATP 水解产生的能量沿着其结合的微管拉动染色体。运动导致动粒末端上的微管发生解聚作用。在（B）中，染色体的运动是由附在微管末端的酶解聚微管来推动的，酶利用 ATP 水解产生的能量移除微管附着在动粒端的蛋白亚基。当那些微管蛋白亚基脱落时，为了保持结合于微管壁上，动粒被迫向极滑动。两种机制可能都在使用，但是目前的证据倾向于如（B）所示的模型。

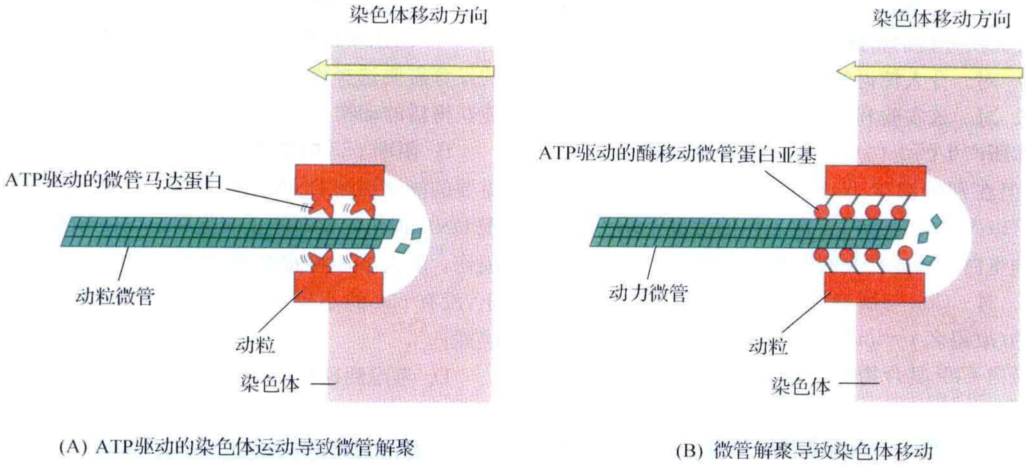


图 A18-21

答案 18-22 两个姐妹染色单体进入同一子细胞可能有如下原因之一。①如果连接两个姐妹染色单体的微管或微管连接的动粒在后期断裂，那么这两个姐妹染色单体就可能被拉向同一纺锤极，因而它们进入同一子细胞；②如果来自于同一纺锤极的微管与两个姐妹染色单体的动粒结合，那么染色体将被拉向同一极；③如果连接姐妹染色单体的黏结蛋白没有降解，那么染色体可能被拉向同一极；④如果复制过的染色体未被微管捕捉并游离在纺锤体外面，那么这个染色体也可能进入同一子细胞。

其中一些有丝分裂过程中的错误可能激活检查点机制，延迟后期的开始直到所有的染色体完全地连接上纺锤体的两极。"纺锤体装配"检查点机制能够最大限度地纠正染色体连接错误，这就是为什么这样的错误罕见的原因。

两个姐妹染色单体进入同一子细胞的后果往往很可怕。一个子细胞可能只含有该染色体所携带基因的一份拷贝，而另一个子细胞携带了三份拷贝。基因量的改变导致 mRNA 的量以及产出的蛋白质的量发生相应的变化，这对细胞来说往往是有害的。另外还有这种可能，单一染色体拷贝可能含有某种重要功能缺陷基因，原本可以由正常拷贝的基因替代，现在却不行了。

答案 18-23 A. 对。中心体复制在 M 期起始之前的间期进行。

B. 对。姐妹染色单体仅在后期开始时完全分离。

C. 错。极间微管末端相互重叠并通过将微管之间跨接起来的蛋白质(包括马达蛋白)而相互连接。

D. 错。微管和马达蛋白在 DNA 复制中不起任何作用。

E. 错。在正确陈述中，"着丝粒"应与"中心体"互换。

答案 18-24 抗体能紧密地结合引发它们产生的抗原(本题中为肌球蛋白)。结合抗原后，抗体能通过阻止抗原与其他细胞组分的结合来干扰抗原的功能。(A)后期染色体的运动依赖于微管和马达蛋白而不依赖于肌动蛋白或肌球蛋白。因此在有丝分裂后期向细胞注入抗肌球蛋白的抗体对染色体的移动无作用；(B)另外，胞质分裂依赖于一个由肌动蛋白和肌球蛋白丝组成的环的组装和收缩，这个环会形成把细胞一分为二的分裂沟，因此注入抗肌球蛋白的抗体能阻断胞质分裂。

答案 18-25 图 18-38A 中坏死细胞的质膜破裂，如相当于钟表上 12 点钟的位置可见一个明显的缺口。细胞内容物，大部分是质膜和细胞骨架的碎片，从这些缺口中流到胞外。由于在细胞固定前大部分可溶性成分都消失了，所以胞质溶胶着色较浅。相比之下，图 18-38B 中凋亡的细胞有完整的质膜包被，胞质溶胶着色深，表明细胞组分的浓度正常。然而胞内的情形则与正常细胞大不相同，特别典型的结构为从核中突出的大"囊泡"，可能是由核纤层解聚造成的。胞质溶胶中也存在健康细胞所没有的来源未知的膜被大圆泡。这两张图直观地表明坏死细胞发生裂解，而遭受凋亡的细胞保持得比较完整，直至它们被其他细胞吞噬并消化掉。

答案 18-26 A. 错。不存在 G_1 期与 M 期的转换。然而有关 G_1 期与 S 期转换的叙述是正确的。经过这一转换，细胞便可决定其进入分裂周期。

B. 对。细胞凋亡是通过专一于此功能的蛋白酶(caspase)实现的主动过程。

C. 对。设想该机制能够调节神经元的数目以适应神经元所连接的特殊靶细胞的数目。

D. 对。令人惊讶的进化保守性。

E. 对。该实验利用了所谓的条件突变体。条件突变体所产生的蛋白质在某一温度下是稳定的、有功能的，但在别的温度下，则变得不稳定且失去功能。细胞可以先在突变蛋白正常工作的温度下培养，然后转换到蛋白质功能丧失的温度下培养。

F. 对。Cdk 与细胞周期蛋白的耦合是其活化所必需的(故得名 cyclin-dependent kinase)。而且，细胞周期蛋白-Cdk 复合物的激活依赖于 Cdk 蛋白上某些特殊位点的磷酸化和另一些位点的去磷酸化。

答案 18-27 人们通常为一个社会的整体利益而起作用。与此相比，一个动物中的那些细胞必须为一个生物的整体利益起作用的程度要大得多。在生物中，非社会化的细胞行为将导致机体失控，并产生癌变。很多细胞所必须遵守的规则在人类社会中是不能接受的。例如，对大多数人来说不愿为了整个社会的利益而自杀，然而细胞却始终可以这样做。

答案 18-28 (如果那是不得不完成的目标的话)导致增加细胞数目的 C 方案最可能获得成功。难题当然是，每种组织的细胞数目增长必须与该组织在生物体中保持平衡的比例相配，尽管不同的细胞响应不同的生长因子。如图 A18-28 所示，实际上这种方案取得了有限的成功。分泌极大量生长激素的小鼠(*左*)——刺激产生各种依细胞类型而别的分泌蛋白作为生存因子、生长因子或者有丝分裂原——的个体几乎为正常小鼠(*右*)的两倍大。然而，为了达到这个目的，生长激素必须大大超额产生(约 50 倍)。另外，注意那个过量分泌生长激素的小鼠甚至没有达到一只大鼠的大小，更别说狗了。

图 A18-28 图片承蒙 Ralph Brinster 惠许。

其他方案均存在概念问题：

A. 阻止细胞凋亡可能会导致发育缺陷，因为鼠的发育需要选择性地死亡许多细胞。这样就不大可能获得活的动物；

B. 阻断 p53 的功能将导致丧失细胞周期中一个重要的能够探测 DNA 损伤的关卡。该检查点一旦发现 DNA 损伤便立即停止细胞周期以便细胞修复这些损伤。除去 p53 将提高突变率以及发生肿瘤。事实上，没有 p53 的小鼠通常发育正常，但年幼时便死于癌症；

D. 考虑到这种情况，改变职业可能为一种不错的选择。

答案 18-29 伤口附近应急的有限 PDGF 释放只能在有限的时间内激发伤口附近细胞分裂，随后 PDGF 会被降解。而突变细胞则不同，它们持续地释放 PDGF，使 PDGF 的量达到不可控的高水平，而且这些制造 PDGF 的突变细胞常常不适当地表达其自身的 PDGF 受体，所以它们促进自我增殖，促进癌的形成。

答案 18-30 三种类型的突变细胞应该都不能分裂。

A. 细胞能进入有丝分裂，但却不能从有丝分裂中退出。

B. 细胞将永远停止在 G_1 期，因为 G_1 期细胞周期蛋白-Cdk 复合物失活。

C. 细胞分裂所需的基因将无法被激活转录，因为所需的转录调控蛋白会被非磷酸化的 Rb 所持续抑制。

答案 18-31 在酗酒者体内，肝细胞增生，因为肝脏负担过重并被大量需要代谢的酒精所毒害。这就需要更多的肝细胞激活通常调节增殖的控制机制。如果肝脏没有严重损伤也没有大量伤痕，在酗酒者停止经常饮酒后，肝通常会恢复到原来大小。然而在肝癌中，突变破坏正常的细胞增殖控制，结果使细胞不受控制地，通常是致命地持续分裂。

第 19 章

答案 19-1 尽管第一次减数分裂时每个子代细胞含有数量与二倍体相同的 DNA，但是实际上每个细胞只含有单倍体的染色体(虽然是两份拷贝)，每条染色体只有一种同源染色体(虽然发生交换时有小部分互换)。因为成对的母源和父源染色体含有不同的等位基因，所以这些子代细胞在遗传上是不同的；每一个细胞中的染色体或者丢掉母源的或者丢掉父源的

等位基因。相反，有丝分裂产生的体细胞遗传了二倍体的染色体，并且所有的子代细胞在遗传上都是相同的，既有母源的也有父源的等位基因。减数分裂产生的配子的作用是在有性生殖过程中混合和重组基因库，因此它们之间遗传上些许的不同无疑是对群体遗传构成有好处的。另外，体细胞是个体组成的基础，要求所有细胞的遗传构成一致，且同时含有母源和父源染色体。

答案 19-2 一般地，女人一生中产生的成熟卵子的数量少于 1000 个(40 年内每年约 12 个)；除去减数分裂时的交换因素，这个数字还不足可能的配子种类的 1/10。而男人一生中将会产生数十亿的精子，所以原则上，现实中每一种染色体的组合都会重复数次。

答案 19-3 为了简单起见，假设父亲在 1 号染色体的一份拷贝上含有两个显性性状，M 和 N。如果这两个基因位于同一染色体的两端，并且如题所示只发生一次交换，那么他的孩子一半是表达 M 性状，另一半表达 N 性状，而不会有孩子同父亲一样同时含有 M 和 N。这与实际情况是相差较大的，事实上每条染色体会发生多次交换，使 M 和 N 的遗传方式与二者位于不同染色体上的情况相同。通过构建如图 19-23 一样的庞纳特方格，在下面与现实接近的格子里，我们会发现，该父亲的孩子中有 1/4 同时遗传有两个性状，1/4 遗传有 M，1/4 遗传有 N，剩余的 1/4 则没有遗传任何一个性状。

答案 19-4 近亲繁殖产生的个体的许多基因是纯合的。以一个极端的情况为例，兄妹间的婚配(如古代埃及的法老)：因为他们的亲代血缘很近，所以子代所遗传的母源和父源的等位基因很有可能是相同的。许多代内的持续的近亲结婚，会使子代间的差别变小而且几乎所有的基因都会成为纯合的。因为遗传的随机性机制，近亲繁殖会导致一些有害的等位基因在种群中积累起来，从而使个体的适应度降低。同理，在其他的近交系中，也会发生同样的事情，只是有害基因的种类不同。而当两个来自不同近交系的个体间交配，它们的子代会从母亲那里得到的有害基因假设为 A、B、C，但它们会从父亲那里得到这些基因的正常版本；反之，它们从父亲那里得到的有害基因假设为 D、E、F，它们同样会从母亲那里得到这些基因的正常版本。因为大部分的有害基因是隐性的，而子代中所有的这些有害基因均是杂合的，所以子代会免于亲代中这些有害基因的影响。

答案 19-5 尽管 3 种解释在原则上都可以造成所观察到的结果，但实际上 A 和 B 是完全不可能的。

A. 在这样的 SNP 分析中检测出如此高的 DNA 不稳定性；是没有先例的无论如何，应该预测 SNP 的稳定性会随着年龄而降低，而不会在 50 岁时突然下降。

B. 人群中基因的变化是非常缓慢的(除非大量的群体迁移，带来大批遗传上不同的个体)。50 年前出生的人在遗传上几乎与现在的人是一样的。

C. 这种假设是正确的。应用具有这些特征的 SNP 已经发现了一个可以显著增加心脏病死亡风险的基因。

答案 19-6 自然选择本身还不足以消除掉群体中隐性的致命基因。以下是对这个问题的分析。纯合缺陷的个体只有当两个杂合缺陷的个体交配时才会出生。根据孟德尔遗传法则：以这种形式交配产生的后代的比例是：1 个正常个体：2 个杂合个体：1 个纯合缺陷个体。因此，在统计学上，杂合个体数目永远多于纯合缺陷的个体。虽然自然选择通过死亡消除了纯合缺陷个体中的缺陷基因，但是它不能去除杂合子中的缺陷基因，因为在杂合子中缺陷基因不影响表型。自然选择会保持缺陷基因在群体中的低频率，但是在没有其他影响因素的情况下，在杂合个体中永远保留着这样的缺陷基因。

在缺陷基因低频率存在的情况下，偶然性成为一个重要的影响因素。偶然变异可以增加或者降低杂合个体出现的频率(并因此而影响缺陷基因的频率)。偶然性可以使杂合子间交配产生的子代全部是正常的，从而将缺陷基因从种系中消除。缺陷基因的频率增加受到自然选择的限制，但是频率降低则不会受其影响，从而可以通过偶然因素将缺陷基因从种群中消除掉。另外，新的突变也会不断的产生，尽管频率很低，新的缺陷的等位基因还会出现。在一个大的群体中，最终新的缺陷的等位基因的产生和旧的缺陷基因由于纯合子的消除会达到一种平衡。

答案 19-7 A. 正确

B. 正确

C. 错误，减数分裂时产生的突变是可以遗传的，除非它们会导致配子无活力。

答案 19-8 如果姐妹染色单体分离前连接其中的一条微管断裂，则会使同一条染色体的两份拷贝进入到同一个子代细胞中。或者，从一极伸出的纺锤丝结合到了染色体的两个着丝粒。这种罕见的严重的错误，会导致一个子代细胞只含有该条染色体上所有基因的一份拷贝，而另一个子代细胞则含有三份拷贝。这种基因剂量的改变，会导致相应的 mRNA 和蛋白产物的变化，在通常情况下是对细胞有害的。如果在减数分裂配子形成时发生这种错误，这种错误会波

及整个生物体。一种称为唐氏综合征的精神障碍性疾病，就是由于身体中所有的有核细胞都含有21号染色体的三份拷贝所造成的。

答案19-9 减数分裂起始于DNA的复制，产生一个每条染色体都有四份拷贝的四倍体细胞。在两次连续的减数分裂中，这四份拷贝必需平均分配到四个单倍体细胞中。姐妹染色体在分裂时保持配对可以使：①第一次减数分裂产生的细胞得到两组完整的染色体；②而在接下来的一次减数分裂时染色体也可以被平均分配。如果姐妹染色单体不保持配对的状态，那么在第二次减数分裂时就不可能区分哪两条染色单体是一组的，也就很难能够精确地保证每个子代细胞的每条染色体都能得到一份拷贝。在第一次减数分裂后保持两条姐妹染色单体间的配对，就很容易区分哪两条染色单体是一对的。

这一生物学原理提示我们在将袜子放进洗衣机前先将它们成双地固定在一起，那么在洗完后，原来的令人讨厌的分拣工作就可以避免了。

答案19-10 A. 基因是一段可以编码蛋白质或者功能性RNA的DNA序列。一个等位基因是一个基因的另一种形式。在种群中，经常会有多种“正常的”等位基因，其功能是相同的。另外，也会有许多罕见的具有不同程度缺陷的等位基因。但是，正常地，每个个体的每个基因最多含有两个等位基因。

B. 如果一个个体某一基因的两个等位基因是相同的，那么我们说该基因是纯合的；而如果某一基因的两个等位基因是不同的，我们说该基因是杂合的。

C. 基因型是组成个体基因组的特定等位基因的组合；它是基因组每个基因所有特定形式的细目。实际上在实验室研究的生物体，基因型经常表示为个体与野生型（自然发生的标准的类型）的所有差别的列表。表型是指个体所有可以观察到的特征。事实上，表型经常表示为个体与野生型所有可见特征差别的列表。

D. 如果等位基因*A*只要存在一份拷贝就足以影响表型，那么*A*就是显性的；也就是杂合子（基因型为*Aa*）与*aa*的纯合子的表型不同。如果一个等位基因*a*（相对于等位基因*A*）的一份拷贝并不能改变表型，也就是*Aa*个体与*AA*的表型相同，那么等位基因*a*就是隐性的。如果杂合子的表型与任意一个基因纯合时的表型均不同，那么该等位基因称为共显性。

答案19-11 A. 既然豌豆是二倍体植物，那么纯种的植物必需含有两份均失去功能的相同突变的拷贝。

B. 不能，因为不同基因型可以产生相同的表型。

C. 如果每一植株带有位于不同基因上的突变，该现象可以通过互补实验来检测（图版19-1）。假设植株A与植株B杂交，所有的F_1代均为圆形种子，那么B与C、A与C杂交时也是同样的结果。相反地，如果两个在同一个基因上带有功能丧失性突变（即使这些突变不同）的纯种植株杂交，只会产生皱缩的种子。

答案19-12 A. 该突变可能是显性的，因为受累亲代（三个家庭中一方的均是患者）大约一半的子女是耳聋的，而受累个体的婚配对象不太可能都是该突变的携带者。

B. 该突变是在常染色体上。如果是在性染色体上，那么或者是所有的女性后代是患者（假设突变是在祖父的X染色体上），或者是所有的男性后代是患者（假设该突变在祖父的Y染色体上）。事实上，家系图显示既有男性又有女性遗传了该突变。

C. 假设该突变位于祖父12号染色体其中的一条上，子代中所有的12号染色体应该携带不同模式的SNP，因为一条遗传自母亲另一条遗传自父亲。传递到孙子女的12号染色体经历了两次减数分裂，每代一次。

由于减数分裂时每条染色体会发生2～3次的交换，每条从祖父遗传来的染色体已经发生了约5次交换，将染色体分为6个片段。在孙子女的4个患者中，致聋基因的相邻的SNP的模式应该相同；并且，这些SNP应该与其他7个正常孙子女的模式明显不同。这些SNP应该组成一个相对较大的单倍体域，大约是12号染色体的1/6。（每个孙子女1/4的DNA遗传自祖父，约70个这样长度的片段分散在孙子女的46条染色体中。）

答案19-13 个体1或者是正常基因的杂合子（+/−），或者是纯合子（+/+）（她的父母必须都是杂合子，因为他们有一个纯合突变的孩子）。个体2必须是隐性耳聋基因的纯合子（−/−）。个体3几乎肯定是杂合子（+/−），并且将突变的等位基因传递给他的儿子和孙子。由于已经假定突变的等位基因很罕见，个体4很可能是正常基因的纯合子（+/+）。

答案19-14 你朋友的结论是错误的。

A. 孟德尔法则以及我们对其机制的理解摒弃了我们关于人类遗传的一些错误观点。其中一个就是第一个出生的孩子遗传到某一性状的可能性高于他的同胞。

B. 该家系中，第一胎是患者的概率是1/4，而三代均是如此的可能性是1/64。

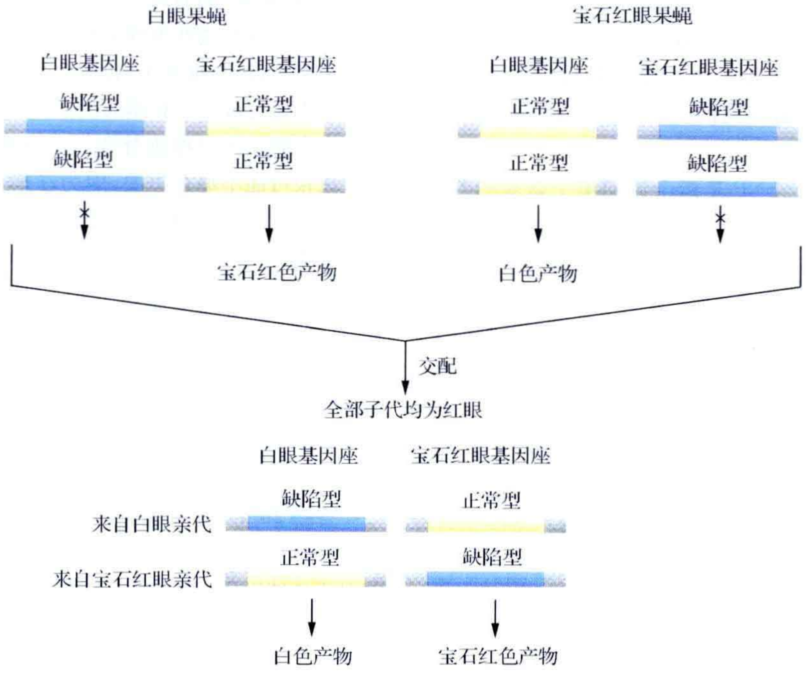


图 A19-18

C. 增加检测成员的数目和代数，可以很快地揭示这种特殊的家系遗传模式是随机出现的。

D. 也有另外一种可能性，但是需要有强有力的统计学的结果支持，即提示在这一过程中可能涉及选择性的机制：例如，第一胎是患者的父母在怀孕第二胎时会进行筛查，并终止患儿的出生。这样就会使第二胎也是患儿的概率大大降低。

答案 19-15 携带者是杂合的，他的精子或者她的卵子中的 50% 携带有致病基因。如果两个携带者结婚，出生具有致死表型婴儿的概率为 25%。因为 100 人中有 1 个是携带者，那么两个携带者结婚的概率是 10 000(100×100)，所以 40 000 个新生儿中就有 1 个这样的患儿，也就是每年出生 100 万人就会有 25 个患儿。

答案 19-16 显性负性突变会产生突变的基因产物，干扰正常基因产物的功能，从而在正常基因存在的情况下产生功能丧失性的表型。因为它只要有一份基因拷贝就可以影响表型，所以我们说它是显性的。功能获得型突变会增加基因的活性，或者使基因在不恰当的情况下激活。

答案 19-17 这种说法大致上是正确的。糖尿病是最早被人类认识的疾病之一，可以追溯到古希腊时期。糖尿病这个词来自希腊语“水管”，被用于描述该病的主要症状：“之所以称之为糖尿病，因为它像一个水管，将人体转化成一个体液流过的管子”(或者可以说，未经医治的患者总是口渴，同时也排出大量的尿以平衡体内的水分)。如果没有人类的疾病，胰岛素的作用也不会以需求如此大的方式引起我们的重视。我们最终会解析它的作用，也许现在就可以，但是我们目前还不能聚焦到分子水平的理解，从而对此病作出详尽的描述。即使现在，对人类疾病的理解和治疗仍是生物医学研究的主要驱动力。

答案 19-18 A. 如图 A19-18 所示，如果不同基因缺陷的果蝇交配，它们的子代在每个位点上都会有一份正常的拷贝。以宝石红眼果蝇和白眼果蝇交配为例，每个子代果蝇都会从一方遗传一份有功能的白色基因，从另一方遗传一份有功能的宝石红基因。因为相对于野生型的等位基因，这两个突变型等位基因都是隐性的，所以所有的子代都表现为野生型，也就是砖红色眼睛。

B. 石榴红、宝石红色、朱红色和淡红色是互补的，白眼的各个等位基因也是互补的(也就是说当这些突变体互相交配时，后代眼睛的颜色均是正常的)；所以这些突变位于不同的基因上。反之，白色、樱桃红、珊瑚红、杏黄色和浅黄色是不互补的，因此这些突变是位于同一个基因上，也就是被命名为“白色”的基因上。因此，这 9 种不同颜色的突变位于 5 个不同基因上。

C. 同一个基因的不同等位基因，如白色基因的 5

种等位基因，常常具有不同的表型。不同的突变在不同程度上影响基因产物的功能，这主要取决于突变的位置。不产生功能性产物的等位基因（无义等位基因），即使它们是由不同的 DNA 序列改变所造成的，表型也相同。

答案 19-19 SNP 是指个体间单个碱基的差异，在群体范围内，该位点上存在着的两种或两种以上的变异均具有较高的频率。在人群中，SNP 发生的频率约为每 1000 个碱基的序列中 1 个。在多种生物体中，SNP 已经被检测并制图，其中包括人类基因组中的几百万个 SNP。寡核苷酸探针杂交可以检测 SNP，并可以作为已知基因组序列的物理标记。通过追踪突变基因在不同交配中的流动，并结合基因与特定 SNP 的共遗传，我们可以将基因的位置缩小到染色体上一段只具有少数基因的区域。然后筛查这些候选基因是否存在造成原始突变表型的突变（参考图 19-32）。

答案 19-20 测序后，我们可以立刻知道 Tim 和 John 的序列差异。但是在人群中很罕见的突变对于大多数遗传作图都是无用的。在大的人群中检测每个 SNP 的频率，可以在其中找出频率大于 10%的 SNP。这些 SNP 对将来的遗传作图才是有用的。

第 20 章

答案 20-1 微管的这种水平定向与沉积在细胞壁上的纤维素纤维的水平定向排列有关。因此，细胞将在垂直方向上生长，在纤维素纤维之间扩充间距，但不拉伸纤维。以这种方式，茎将迅速伸长。在典型的自然环境下，当从黑暗向白昼转换时，这一现象尤为突出。

答案 20-2 A. 由于三条胶原蛋白链必须绞在一起形成三股螺旋，因此即使同时有正常的胶原蛋白链存在，有缺陷的分子还是会妨碍组装。所以胶原蛋白的突变是显性的，也就是即使有这个基因的一个正常拷贝存在，那些突变仍有一种有害的效应。

B. 这个突变的不同的严重性由组装过程中的极性造成。胶原蛋白单体组装成棒状的三股链是从它们的氨基末端起始的。因此一个“早”的甘氨酸突变使之只能形成短“棒”，而更为下游的突变可形成较长的更正常一些的“棒”。

答案 20-3 蛋白聚糖引人注意的膨胀能力及因此而造成占据较大体积的能力依赖于它所带的负电荷，这使它吸引一阳离子云，主要为 Na^+，而后又通过渗透作用吸进大量的水分，从而使蛋白聚糖具有其独特的性质。相反，不带电荷的多糖如纤维素、淀粉和糖原，则容易紧密结合形成纤维或颗粒。

答案 20-4 黏着斑在结缔组织和培养细胞中很普遍：结缔组织中，成纤维细胞利用黏着斑在胞外基质中施展牵引力；培养细胞中，我们观察到的细胞爬行也是利用黏着斑完成的。在基质上牵拉或驱动爬行运动的动力来自肌动蛋白细胞骨架。在成熟的上皮细胞中，黏着斑很可能不那么重要，因为在那里细胞在很大程度上是固定的，没必要在基板上爬行。

答案 20-5 假定一个细胞因为受损伤而其质膜变成漏的，胞外高浓度的离子像 Na^+ 和 Ca^{2+} 会因此涌进细胞，而宝贵的代谢物质则会漏出去。假如该细胞依然与它的健康的邻居们保持联络的话，它们也将受到损害。但是受损细胞中涌入的 Ca^{2+} 会导致它的间隙连接立刻关闭，有效地将该细胞与周围隔离开来，防止损伤传播下去。

答案 20-6 电离辐射（高能的）可穿透物质，将电子击出轨道，破坏化学键。尤其是它会导致 DNA 的断裂或其他损伤，使细胞停止于细胞周期中（见第 18 章）。如果损伤十分严重以至无法修复，细胞就会永远停滞并走向程序性死亡，即启动一个自杀程序。

答案 20-7 肠上皮细胞所面临的是一个相当恶劣的环境，其中有消化酶和因机体每天摄入的食物不同而变化多样的各种物质。上皮细胞同时又是对周围环境中普遍存在的有害物质和致突变体的第一道防线。受伤以及病弱的细胞由于快速的细胞周转而被及时清除掉，从而防止其对机体产生有害的后果。如果由于突变的缘故一个上皮细胞开始不合适的分裂，那么它与它的不受欢迎的子代细胞常常会靠通常的处理方法简单地被从绒毛顶端抛弃掉，所以这种突变常常发生，却极少导致癌变。

另外，神经元生活在极受保护的环境中，与外界隔离。它的功能依赖于一个与其他神经元相连接的复杂系统，该系统是在发育过程中建立起来，而且一旦神经元死亡就很难重建。

答案 20-8 每一次细胞分裂都会增加一个细胞，因而如果机体内的那些细胞永远不丢失的话，体内细胞的个数应等于分裂次数加上一。这个细胞分裂次数是细胞数的 10 000 倍，因为在一生中，对于每一个留在体内的细胞而言，有 10 000 个细胞被清除和替换。

答案 20-9 A. 错。间隙连接不与细胞骨架相连。它的功能是通过允许小分子在胞间穿行提供细胞与细胞间的联络。

B. 对。植物萎蔫时，细胞内的膨压减小，结果细胞壁上有张力但没有抗压强度，像橡胶轮胎一样，不再提供刚性。

C. 错。蛋白聚糖能承受大的压力但它没有刚性结

构。它的空间充填特性来自于它们的大量吸水倾向。

D. 对。

E. 对。

F. 对。干细胞稳定地表达调控基因，以保证它们的子细胞是合适的分化细胞类型。

答案 20-10 胞质小分子如谷氨酸、cAMP、Ca^{2+}，可迅速穿过间隙连接或胞间连丝，而胞质大分子如 mRNA 和 G 蛋白等则不能。质膜磷脂在膜平面上扩散而穿过胞间连丝，是因为相邻细胞的质膜通过这些连接而连续不断。这种交流不可能穿过间隙连接，因为相连的两个细胞膜在这里是各自分开的。

答案 20-11 植物所面临的环境是极为多变的，它周围的渗透性质波动也很大。我们从动物细胞所获知的中间丝网络在这里不能为细胞提供完全的渗透支持：像铆钉状的分散的附着点将无法防止细胞膜在受到来自细胞内巨大的渗透压时不爆裂。

答案 20-12 动作电位可通过间隙连接在细胞与细胞之间传递。事实上，那些心肌细胞就是以这种方式相连的，它保证细胞在受到刺激时同步收缩。但是这种在细胞与细胞之间传递信号的机制是相当局限的。就像我们在第 12 章中看到的，突触远比它更复杂精致，可以使信号得到调节，并使一些信号与细胞接受到的其他信号整合。因此，间隙连接就像电器元件之间的简单焊点，而突触就像复杂的中继装置，使神经元系统能执行运算操作。

答案 20-13 制备 Jello 时，将明胶放在水中煮，从而使胶原蛋白纤维变性；在冷却时，无序的纤维形成了杂乱纠缠的一团，凝固形成凝胶。这一胶体事实上类似于成纤维细胞最初分泌出来的尚未交联和排列好的胶原蛋白。

答案 20-14 DNA 是规定一个生物的全部结构特征的蓝图，其证据基于下列观察：由突变造成的 DNA 的微小变化导致生物中的改变。尽管 DNA 提供规定结构的那些计划，但它需要在发育的过程中被执行。这一个过程需要一个合适的环境（一个人类的婴儿不会与鹳的卵壳相适应）、适合的营养、合适的工具（像早期发育所需要的合适的基因调控蛋白）、合适的空间排布（例如，卵细胞中的不对称性是为早期细胞分裂期间恰当的细胞分化做的准备）等。因此，遗传就不单单局限在机体的 DNA 传递上，因为发育需要双亲所建立的合适的环境。不过不管怎样，当所有这些条件都得到满足时，编档保存在基因中的计划将决定所形成的生物体的结构。

答案 20-15 白细胞在血流中循环并迁移进出组织，行使其保卫机体免受感染的功能：它们生来就是侵袭性的。一旦发生突变，扰乱了对产生这些细胞的正常控制，就不再需要其他突变使细胞扩散到全身。这样，引起白血病所需积累的基因突变就要比其他癌症少。

答案 20-16 曲线的形状反映了在癌症产生之前，在细胞中需要多次突变的积累才能导致癌症的发生。如果一个单一突变就足够的话，图像将变成一条水平的直线：某一特定突变发生的可能性以及发生癌症的可能性，在任何年龄都会是一样的。如果需要两个特定突变的话，图中将是一条从原点出发向上的斜线：第二个突变在任何时候都具有相同的发生机会，但只有在同一系统中第一个突变如果已经发生，第二个突变才会促使细胞倾向于癌变状态，而第一个突变已经在细胞中发生的可能与个体的年龄成正比。图中陡峭的曲线近似地以年龄的 5 次方上升，说明在癌症发生前必须积累了远超 2 次的突变。很难讲具体多少次突变，因为癌症的发生方式很复杂。突变相继发生能改变细胞数量和细胞行为，从而进一步改变其后的突变发生的概率以及驱使癌症进化的选择压力。

答案 20-17 当细胞接触致癌物时，突变被诱导产生，但是任何一个细胞内相关突变的数量通常不足以使细胞直接转变成癌细胞。这些已经被诱导突变倾向于癌变的细胞在之后的若干年间进一步积累更多的突变。最终，它们其中的一个会变成癌细胞。患者癌症发生的时间远滞后于接触诱癌因素的时间，因而若要治罪于烟草生产商或工业致癌物生产商就很困难了。

答案 20-18 按定义，任何物质凡是可以促进一种或更多类型癌发生即为致癌物。因此性激素可被认为是天然的致癌物。尽管大部分致癌物是通过直接引起突变而起作用的，致癌效应也常以其他方式进行。性激素增加细胞分裂的速率和激素敏感器官如乳腺、子宫及前列腺中的细胞数目。第一个效应增加每个细胞的突变率，因为不考虑环境因素，突变本来就是自发地在 DNA 复制和染色体分离期间发生；第二个效应增加危险细胞的数目。以这种方式或其他方式，激素都能促进癌症的发生，即使它们不直接引起突变。

答案 20-19 答案是否定的——癌症一般不是一种遗传疾病。癌症是由我们自身体细胞发生突变引发的，并非来自遗传于双亲的突变导致。然而也有极少数的癌症有较强的遗传因素，父母与孩子得某种癌症的概率比常人都要高。例如，某一家族的成员都携带肿瘤抑制基因 *APC* 双拷贝其中一份缺失的突变，那么家族中的小孩会遗传、易得结肠癌。另外还有包括乳腺癌在内的几种遗传倾向性弱得多的癌症，而它们的致病基因目前仍然没有找到。

索　引

α 螺旋　128,159
β 折叠　128,159
Bcl2 家族　628
Ca^{2+}/钙调蛋白依赖的蛋白激酶(CaM 激酶)　546
cAMP　541
cAMP 依赖的蛋白激酶(蛋白激酶 A,PKA)　541
Cdk 抑制蛋白　609
cDNA 文库　336
DNA 调节序列　274
DNA 甲基化　286
DNA 聚合酶　206
DNA 克隆　331
DNA 克隆技术　327
DNA 连接酶　332
DNA 微阵列　352
DNA 文库　335
DNA 修复　214
ES 细胞　702
G_1/S 期细胞周期蛋白　607
G_1 期　602
G_1 期细胞周期蛋白　608
G_2 期　603
GTP 结合蛋白　150,535
G 蛋白　538
G 蛋白偶联受体　537
MAP 激酶　551
MAP 激酶信号组件　551
M 期　602
M 期细胞周期蛋白　607
Ras　550
Rho 蛋白家族　589
RNA(核糖核酸)　210
RNA 干扰　292,356
RNA 加工　243
RNA 剪接　245
RNA 聚合酶　237
S 期　602
S 期细胞周期蛋白　607
Wnt 蛋白　701
X 射线晶体学　160
X 射线衍射　159

A

癌基因　709
癌症　704
氨基酸　54,159
氨基酸序列　122
氨酰-tRNA 合成酶　254

B

半桥粒　693
胞间连丝　695
胞吞　513
胞外基质　677
胞质分裂　622
胞质溶胶　18
饱和　371
保守相似性的单元　311
报告基因　282,349
被动转运　391
鞭毛　581
变构　148,159
表型　353,656
丙酮酸　426
不饱和　371

C

侧链　122
层析　158
常染色质　193
成膜体　625
成纤维细胞　682
程序性细胞死亡　626
纯合的　656
促有丝分裂因子　629
催化　89
催化活性　159
催化剂　90

存活因子　629

D

大分子　57
单倍体　645
单倍型域　669,670
单核苷酸多态性　320
单碱基多态性　666
单体　57
单体 GTP 酶　550
胆固醇　371
蛋白激酶　149
蛋白激酶 C　545
蛋白聚糖　686
蛋白磷酸化　149
蛋白磷酸酶　149
蛋白酶　262
蛋白酶体　262
蛋白质　3,54,122,159
蛋白质的结构　21
蛋白质机器　151
蛋白质家族　134
蛋白质结构域　132
蛋白质指纹图谱　159
蛋白质组学　160
等位基因　642,656
底物　90
点突变　300
电化学梯度　393
电压门控通道　405
电泳　159
电子　39
电子传递链　437,451
电子显微镜　20
淀粉　442
凋亡　626
调节蛋白密码　153
顶端　688
定点诱变　353
动力蛋白　576
动粒　617
动态不稳定性　572
动作电位　409
端粒　184
多态性　666
多肽　122
多肽链　122
多肽主链　122

E

二倍体　645
二级结构　132
二硫键　138
二酰甘油　545

F

发酵　427
翻译　249
翻译起始因子　259
繁殖性克隆　703
反馈抑制　146
反密码子　254
反应中心　474
纺锤极　617
非共价键　61
非同源末端连接　220
分化　272
分解代谢　82,424
分离定律　656
分泌作用　512
分析超速离心机　159
分子　45
辅酶 A　109
复性　330
复制叉　205
复制起始位点　184,202

G

钙黏着蛋白　691
干细胞　699
冈崎片段　208
高尔基体　20,510
功能获得性突变　662
功能丧失性突变　661
共价键　45
共聚焦显微镜　21
构象　61,124
古细菌　11
光合作用　84,470
光系统　474

胱天蛋白酶　628
过渡状态　143
过氧化物酶体　21

H

合成代谢　82
合子　643,653
核被膜　496
核磁共振光谱学　160
核苷酸　55
核开关　289
核孔　497
核酶　258
核糖核酸　57
核糖体　19,255
核糖体 RNA　255
核纤层　569
核型　181
后期　620
后期促进复合物　620
后随链　208
呼吸　87
互补　180
互补实验　665
化学基团　50
化学键　42
化学渗透偶联　451
还原作用　88
缓冲　50
活化能　89
活化物　277
活化载体　103
活性位点　143

J

肌醇-1,4,5-三磷酸　545
肌节　591
肌球蛋白　588
肌原纤维　590
基板　688
基部　688
基因　182
基因表达　238,271
基因复制和分离过程　301
基因敲除　353
基因上不稳定性　707
基因外遗传　195
基因型　353,656
基因置换　353
基因组　5,180
基质　453,471
极性　47,571
间期　602
间隙连接　694
剪接体　246
减数分裂　645
碱　49
碱基对　179
键长　45
交换　647
胶原蛋白　682
结缔组织　681
结合部位　140
姐妹染色单体　611,646
紧密连接　690
进化　5
净化选择　311
静电吸引力　45
聚合酶链反应　327,338
聚合物　57
卷曲螺旋　128

K

抗体　141
抗原　141
可移动的遗传因子　224
控制点　603
醌　466
扩散　98

L

离子　43
离子键　44
离子通道　401
两亲性　366
磷酸肌醇 3 激酶(PI 3 激酶)　552
磷脂　366
磷脂酶 C　544
磷脂酰胆碱　366
绿色荧光蛋白　21,349

螺旋 128

M

马达蛋白 576
酶 89,121
酶学 159
密码子 250
模板 201
模式生物 23
膜蛋白 373
膜电位 406
膜片钳记录 403
膜域 381
膜转运蛋白 388
末期 622
木质素 679

N

纳米 8
内含子 245
内体 517
内质网 499
能斯特方程式 408
逆转录病毒 228
逆转录酶 225
逆转录转座子 225
黏连蛋白 611
黏着连接 691
柠檬酸循环 433
凝缩蛋白 614

O

偶联转运蛋白 398
耦合反应 104

P

胚胎干细胞 702
配对 647
配体 140
配体门控通道 405
配子 642
片状伪足 586
平衡 94
平衡常数 94
葡萄糖 426

Q

启动子 239
起始 tRNA 258
起始识别复合物 610
前导链 208
前期 617
前中期 617
桥粒 692
亲水性 48
氢键 48
球状蛋白 137
驱动蛋白 576
去垢剂 376
纤连蛋白 685
纤毛 580
纤维蛋白 137
纤维素 679

R

染色体 13,181
染色体交叉点 647
染色体浓缩 614
染色体与遗传性 20
染色质 187
染色质重塑复合物 191
溶酶体 21

S

三维结构 159
色谱分析(层析) 159
熵 83
上皮层(单层上皮) 687
射线晶体技术 21
神经递质 414
神经细胞 20
神经元 408
渗透 396
渗透压 396
生长因子 630
生物合成 103
生殖系 644
生殖细胞 299,642
生殖细胞系 299
受精 652

受体酪氨酸激酶　549
疏水性　48
双螺旋　179
双脱氧 DNA 测序法　343
双向定位　618
水合氢离子　49
水平基因转移　308
丝状伪足　586
酸　49
缩合反应　52
锁和钥匙　159

T

碳固定　478
糖　51
糖胺聚糖　686
糖基化层　381
糖酵解　426
糖异生　440
糖原　441
体细胞　299,644
天线复合体　474
铁-硫中心　466
通道蛋白　390
通用转录因子　241
同系物　646
同源　30
同源基因　308
同源染色体　646
同源重组　221
突变　214
突触　414
突触小泡　414
吞噬　515
脱氧核糖核酸　57,175

W

外显子　245
外显子混编　306
网格蛋白　505
微管　570
微管蛋白　570
微核 RNA　246
微米　1
微小 RNA　291
无性生殖　641

X

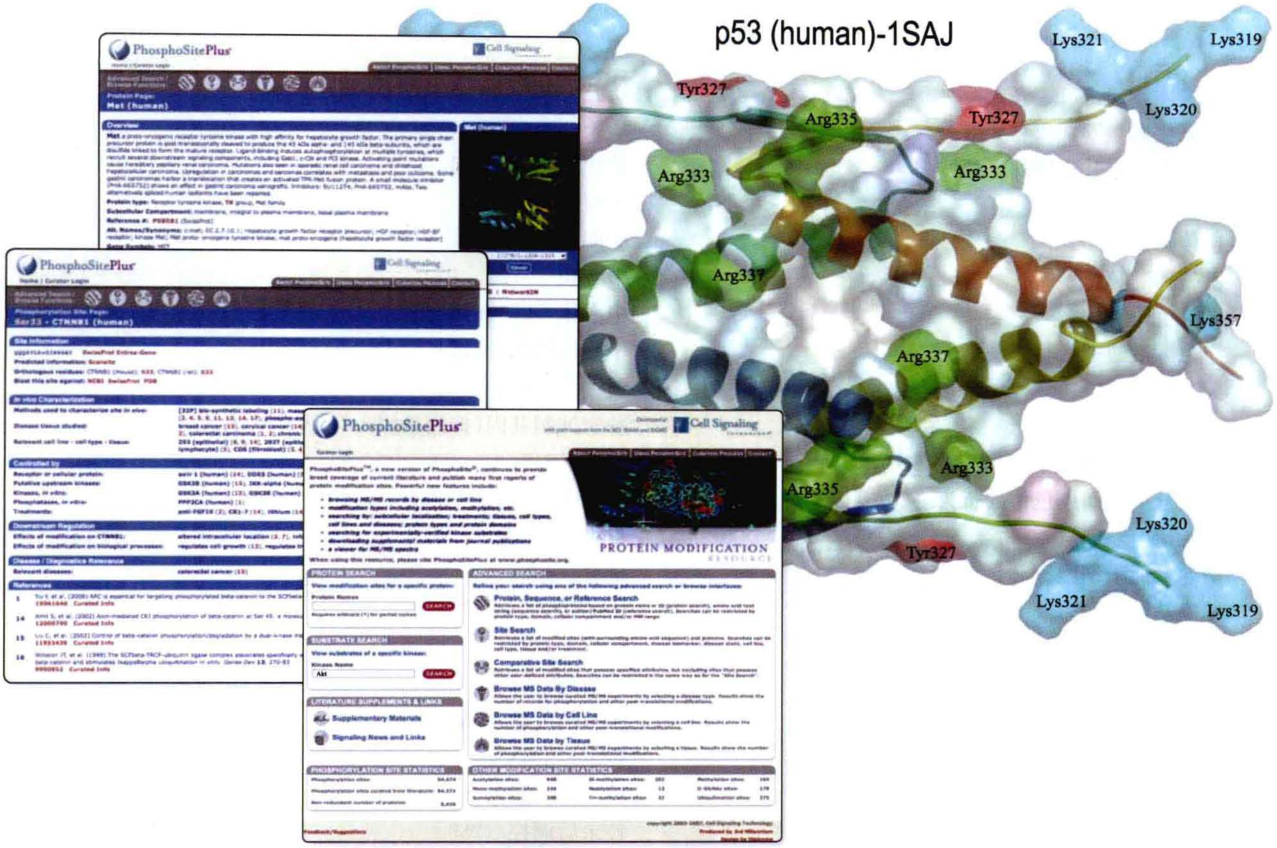
系谱　658
系统发生树　309
细胞　1,20
细胞壁　678
细胞骨架　19,565
细胞核　13,20
细胞理论　20
细胞膜　20
细胞色素　467
细胞色素氧化酶　468
细胞质　7
细胞周期　184,601
细胞周期蛋白　605
细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶　605
细胞周期控制系统　604
细胞组分分离技术　21
细菌　11,20
细菌紫膜质　377
显微镜　5
限制性核酸酶　327,328
线粒体　13,20,21,452
腺苷酸环化酶　541
相对分子质量　40
相对原子质量　40
小干扰 RNA　292
校读　209
新陈代谢　81
信号序列　495
信使 RNA　238
星体　617
性染色体　642
序列　59
选择性剪接　246
血红蛋白　21,159
循环光合磷酸化　477
亚基　39,134
氧化还原电位　463
氧化还原对　463
氧化还原反应　463
氧化磷酸化　437,455
氧化作用　88
叶绿素　473

叶绿体　15,471
一氧化氮　531
胰岛素的氨基酸序列　159
遗传密码　250
遗传筛选　664
乙酰辅酶 A　109
异染色质　193
应力激活通道　405
荧光抗体　21
有丝分裂　615
有丝分裂纺锤体　617
有丝分裂期间染色体的行为　20
有性生殖　641
诱导多能干细胞　704
原癌基因　709
原核生物　9
原生动物　20,21
原位杂交　350
原子　39
阅读框　250

Z

杂合　656
杂交　330
载体蛋白　390
真核生物　9
整联蛋白　685
正反馈环路　286
脂肪　431
脂肪酸　52
脂双层　366
质粒　333
质膜　364
治疗性克隆　703
中间丝　566
中期　619
中心粒　572
中心体　571,616
中心体周期　617
终端　408
肿瘤抑制基因(抑癌基因)　709
重组　647
重组 DNA 分子　332
重组 DNA 技术　326
轴突　408
主动转运　391
转化　333
转换数　99
转基因生物　353
转录　234
转录调控蛋白　274
转录后调控　289
转移 RNA　253
转座子　224
自由能　92
自由能改变　92
自由组合定律　659
阻抑物　277
组蛋白　187
组合控制　281
组织　677

（张　钰　译）



免费的在线资源，

帮助您探讨蛋白质修饰相关研究中的问题

该资源库由美国CST公司提供，美国NIH资助

PhosphoSitePlus® (PSP) 是一个开放的网络资源网站，它整合了广泛的信息，总结了科学研究发现的蛋白修饰位点，以及相应的上下游信号通路。并且，该网站提供了相应的分析软件，可以分析蛋白修饰导致的蛋白结构改变和生物学功能改变。

为您的研究提供以下广泛而专业的资源

- 分子水平显示蛋白修饰位点
- 及时更新激酶底物，以及相关序列
- 提供与蛋白修饰相关的疾病，细胞系和组织分布
- 便捷的搜索界面，可搜索蛋白修饰位点、亚细胞定位、修饰蛋白序列、基序、结构域，以及与之有关的疾病、组织分布和细胞类型

PhosphoSitePlus®

www.phosphosite.org

详情请登录：

www.cst-c.com.cn　www.cellsignal.com

Cell Signaling TECHNOLOGY®

赛信通（上海）生物试剂有限公司暨美国CST公司中国公司 info@cst-c.com.cn